ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. II No 4

1 9 5 3

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
12 APR 1954

PRZEPISY AUTORSKIE

Jako materiał publikacyjny mogą być nadsyłane rozprawy i komunikaty dotyczące prac oryginalnych z dziedziny mikrobiologii ogólnej, rolniczej i przemysłowej oraz referaty przeglądowe nigdzie dotychczas nie opublikowane.

Jednostronnie maszynopisy o podwójnych odstępach, z marginesem 4 cm należy przesyłać w 2 egz. na ręce sekretarza: Zakład Mikrobiologii Ogólnej UMCS, Lublin, Al. Racławickie 20.

Do prac pisanych po polsku należy dołączyć streszczenie rosyjskie oraz angielskie, francuskie lub niemieckie. Streszczenia powinny zawierać zasadnicze konkluzje pracy i nie powinny przekraczać 15% tekstu. Prace w obcym języku (rosyjski, angielski, francuski, niemiecki) mogą być nadsyłane po uprzednim porozumieniu się z redakcją; należy do nich dołączyć streszczenie polskie i rosyjskie lub polskie i angielskie (francuskie, niemieckie). Każda praca powinna być zaopatrzona w tytuł w języku publikacji oraz streszczenia, nazwisko i inicjały autora(ów), nazwę i adres zakładu w którym wykonano pracę.

Pożądany jest następujący układ prac: a) krótki wstęp, b) metody badania; c) wyniki, d) dyskusja i wnioski, e) krótkie streszczenie w języku polskim — nie więcej niż 3% tekstu, f) piśmiennictwo, g) streszczenie obcojęzyczne (nie dłuższe niż 15% tekstu).

Prace należy ujmować treściwie; wstęp powinien zawierać tylko dane bezpośrednio odnoszące się do opracowanego tematu; metody należy opisać krótko; tam, gdzie to możliwe, powoływać się na oryginalne opisy metod.

Wyniki mogą być ilustrowane tablicami i wykresami, należy jednak unikać tablic i wykresów dla przedstawienia tych samych danych. Wykresy i tablice powinny być możliwie przejrzyste i nieskomplikowane i ilustrować zasadnicze i istotne wyniki. Rysunki i wykresy należy sporządzać w dwukrotnym powiększeniu, tuszem na bristolu bez połysku — każdy na oddzielnej kartce, zaopatrzonej na odwrocie w wypisane ołówkiem: tytuł pracy, nazwisko autora oraz nr rysunku lub wykresu. Objaśnienia do rysunków i wykresów należy dołączyć na osobnej kartce z wyraźnym zaznaczeniem nr rysunku i wykresu. W objaśnieniach należy podawać powiększenie. Fotografie powinny być kontrastowe, na matowym papierze. Ilość tablic i rysunków musi być ograniczona do minimum.

W maszynopisie należy zaznaczyć miejsce, w którym ma być umieszczony rysunek (wykres, fotografia) oraz dołączyć wykaz tablic i rysunków z podaniem numeracji i miejsca w tekście.

Przy powoływaniu się na piśmiennictwo należy podawać nazwiska autorów i rok publikacji, np. Cienkowski (18..) lub (Cienkowski 18..). Jeżeli praca cytuje więcej niż jedną publikację danego autora z tego samego roku, należy to uwidocznić dodając małe litery (np. 1887 a, 1887 b itd.).

Wykaz cytowanych prac (piśmiennictwo) powinien być sporządzony w układzie alfabetycznym i powinien zawierać następujące elementy: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora(ów), kropka, rok, kropka, tytuł pracy, nazwę czasopisma w przyjętych skrótach, tom, ewentualnie zeszyt, stronicę czasopisma; w wypadku zaś cytowania książki: nr porządkowy, nazwisko i inicjały autora(ów), rok wydania, tytuł książki, wydanie, miejsce i firmę wydawcy, ewentualnie stronicę tekstu.

W tekście i tablicach należy stosować przyjęte skróty, np. ml a nie ccm, g — a nie gr, 100° — a nie 100°C, M-molarny, N-normalny itd.

Przy opisie roztworów należy rozróżniać „%" — g na 100 g roztworu, „% objętościowy" — ml na 100 ml roztworu, „stężenie %" — g na 100 ml rozpuszczalnika.

Nazwy drobnoustrojów należy podawać w brzmieniu łacińskim, przy pierwszym wzmiankowaniu — w pełnym brzmieniu. Dopuszczalne jest również jednoczesne podawanie przyjętych ogólnie nazw polskich.

W dalszym tekście nazwy rodzajowe (nie gatunkowe) należy skracać lub podawać tylko nazwy polskie.

Autor otrzymuje 25 odbitek bezpłatnie; o dodatkowe odbitki autor może zwrócić się do redakcji przy składaniu maszynopisu.

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW
SEKCJA MIKROBIOLOGII OGÓLNEJ, ROLNICZEJ I PRZEMYSŁOWEJ

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. II No 4

1953
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

RADA REDAKCYJNA

Przewodniczący: Jadwiga Ziemięcka, członek-korespondent PAN — Lublin. Kazimierz Bassalik członek tytularny PAN — Warszawa, Józef Heller, członek-korespondent PAN — Warszawa, Jadwiga Jakubowska — Łódź, Adolf Joszt — Gliwice, Aniela Kozłowska — Kraków, Władysław Kunicki-Goldfinger — Lublin, Eugeniusz Pijanowski — członek-korespondent PAN — Warszawa, Feliks Przesmycki — Warszawa.

KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny — Władysław Kunicki-Goldfinger
Sekretarz Redakcji — Kazimierz Dygdała

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — WARSZAWA 1953.

Nakład 975 + 25 nadb.	*Oddano do składania 16. 9. 53*
Ark. wyd. 9,7 Ark. druk. 6¼+2 wkł.	*Podpisano do druku 11. 12. 53*
Papier druk. sat. V, 70 g, 70×100	*Druk ukończono 15. 12. 53*
Cena zł 10.—	*Zamówienie 1073 a — 4-B-22040*

DRUKARNIA IM. REW. PAŹDZIERNIKOWEJ — WARSZAWA

I. Madecka-Borkowska

WPŁYW KOBALTU NA PRZEMIANĘ WĘGLOWODANOWĄ I WYTWARZANIE ACETOINY W PŁYNNYCH HODOWLACH BAKTERYJNYCH

Z Zakładu Chemii Fizjologicznej Akademii Medycznej w Lublinie
Wpłynęło 11.VI.1953 r.

Szczególna rola kobaltu w licznych procesach biologicznych jest przedmiotem wielu prac w piśmiennictwie biochemicznym. Znaczenie kobaltu jako inhibitora i aktywatora stwierdzono na wielu odcinkach przemian bakteryjnych. W badaniach przeprowadzonych u *Staphylococcus aureus* wykazano hamujące działanie soli kobaltawych na czynność rybonukleazy (Miura i Nakamura, 1951). Abelson i Aldous (1950) stwierdzili hamujący wpływ kobaltu na wzrost *Escherichia coli* i *Aerobacter aerogenes*. Na uwagę zasługuje również rola kobaltu w systemie enzymatycznym syntetyzującym acetoinę. Dolin i Gunsalus (1951) wykazali na preparatach enzymatycznych ze *Streptococcus faecalis*, że czynność dekarboksylazy kwasu α-acetomlekowego, zahamowana działaniem 8-oksychinoliny, jest reaktywowana za pomocą jonów kobaltawych. Mechanizm powstawania acetoiny w hodowlach bakteryjnych szczególnie mnie interesował, ponieważ wiązał się z naszymi poprzednimi obserwacjami nad hodowlą *E. coli* na podłożu Kosera (Opieńska-Blauth i współpracownicy, 1953). Autorom udało się wykryć na drodze chromatograficznej w hodowli *E. coli* w obecności jodooctanu sodowego kumulację nieznanego związku X, który wykazywał dodatnią reakcję Voges-Proskauera.

Tematem obecnej pracy było zbadanie wpływu kobaltu na wzrost i przemianę węglowodanową *Escherichia coli, Aerobacter aerogenes* i *Proteus vulgaris*, a w szczególności na mechanizm syntezy acetoiny.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

MATERIAŁ DOŚWIADCZALNY I METODYKA BADAŃ

1. Drobnoustrój:

a) *E. coli*, b) *P. vulgaris*, c) *A. aerogenes*. Szczepy otrzymano z Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej A. M. w Lublinie.

Zawiesiny bakteryjne z powyższych szczepów sporządzano w sposób następujący: do 10 ml jałowego płynu fizjologicznego dodawano 20 uszek ezy platynowej 24 godzinnej hodowli na agarach skośnych.

2. Pożywki:

a) syntetyczna pożywka z glukozą według Kosera, b) podłoże Clarka. Wszystkie odczynniki posiadały wysoki stopień czystości (p. a.). Pożywki jałowiono trzykrotnie w odstępach 24 godz. w aparacie Kocha.

3. Inkubacja:

a) próby zawierające po 10 ml pożywki Kosera i po 0,5 ml zawiesiny bakteryjnej inkubowano przez różny czas w temperaturze 37°; inkubację przerywano za pomocą 10-minutowego ogrzewania prób na wrzącej łaźni wodnej;

b) do probówek z 10 ml pożywki Clarka dodawano po 1 uszku ezy bakterii, po czym hodowlę umieszczano w termostacie.

4. Na podłożach kontrolnych i po inkubacji wykonywano następujące oznaczenia:

a) przyrost ilości bakterii na drodze porównania intensywności zmętnienia,

b) zmiany pH — za pomocą jonometru firmy Radiometr,

c) zużytkowywanie glukozy w podłożu — metodą chromatografii bibułowej (Opieńska-Blauth i współpracownicy, 1950, 1951),

d) próby na obecność acetoiny — odczynem Voges-Proskauera (wg. Westerfielda, 1945).

BADANIA WŁASNE

I. ŚLEDZENIE ZUŻYTKOWANIA GLUKOZY Z POŻYWKI KOSERA PRZEZ *P. VULGARIS*, *A. AEROGENES* I *E. COLI* W WARUNKACH PRAWIDŁOWEGO WZROSTU

a) *P. vulgaris*

Doświadczenia przeprowadzano na pożywce Kosera zawierającej zawiesinę *Proteus vulgaris*, inkubowanej w czasie 24 i 48 godzin. Obserwowano powolny wzrost drobnoustroju, przy czym spadek pH podłoża był dość znaczny (Tabela I).

Analiza chromatograficzna pożywki wykazała powolne zużytkowanie glukozy przez *P. vulgaris*. W próbie 24 godzinnej pojawia się słaba plama nieznanego związku redukującego o R_F 0,085, której natężenie zwiększa się w próbie 48 godzinnej (Fot. 1a).

b) *A. aerogenes*

Identyczne doświadczenia wykonano na pożywce Kosera z zawiesiną *A. aerogenes*. Próby pobierano po 6, 12, 24 i 48 godz. Stwierdzono dość szybki wzrost *A. aerogenes* w porównaniu z *P. vulgaris*. Oznaczenia pH wskazywały na silne zakwaszenie pożywki, trwające jednak tylko do 12 godzin hodowli (Tabela I).

Tabela I

Wzrost zmętnienia i pH podłoża Kosera w hodowli *P. vulgaris*, *A. aerogenes* i *E. coli*

Увеличение мутнения и pH среды Козера в культурах *P. vulgaris*, *A. aerogenes*, *E. coli*

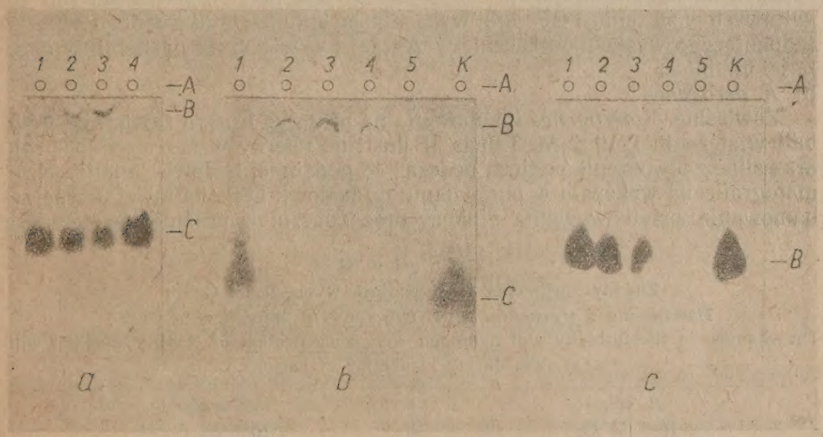
The changes in the turbidity and hydrogen ion concentration of Koser's medium during incubation of *P. vulgaris*, *A. aerogenes* and *E. coli*

P. vulgaris			*A. aerogenes*			*E. coli*		
czas	pH	zmętnienie	czas	pH	zmętnienie	czas	pH	zmętnienie
0h	6,3	+	0h	6,3	+	0h	6,3	+
24h	5,5	++	6h	4,8	++	24h	4,4	+++
48h	4,8	+++	12h	4,7	+++	48h	4,05	++++
.	.	.	24h	5,4	++++	.	.	.
.	.	.	48h	5,3	+++++	.	.	.

Na chromatogramie otrzymanym po wkropleniu podłoża stwierdzono: a) całkowite zużycie glukozy po 6 godzinach, b) pojawienie się plamy nieznanego związku redukującego o R_F 0,085, znikającej jednak po 24 godzinnej inkubacji (Fot. 1b).

c) *E. coli*

Badania przeprowadzone na pożywce Kosera z zawiesiną *E. coli* dały następujący obraz: szybki wzrost drobnoustroju oraz duży spadek pH podłoża w porównaniu ze zmianami pH w hodowli *P. vulgaris* i *A. aerogenes* (Tabela I). Fot. 1 c ilustruje chromatogram z uwidocznieniem zużytkowania glukozy w czasie inkubacji.



Fot. 1 — Znikanie glukozy (C) i pojawianie się związku *X* (B) w hodowlach bakteryjnych na pożywce Kosera (Chromatogramy)

a — *P. vulgaris*, czas inkubacji: 1—0 godz., 2—24 godz., 3—48 godz.

b — *A. aerogenes*, „ „ : 1—0 godz., 2— 6 godz., 3—12 godz. 4—24 godz., 5—48 godz.

c — *E. coli* „ „ : 1, 2, 3, 4 i 5 — tak jak w pkt. b.

Фот. 1 — Исчезание глюкозы (C) и возникание соединения *X* (B) в бактериальных культурах на среде Козера (Хроматограммы)

a — *P. vulgaris* время инкубации: 1—0 час., 2—24 ч., 3—48 ч.

b — *A. aerogenes* „ „ 1—0 ч., 2—6 ч., 3—12 ч., 4—24 ч., 5—48 ч.

c — *E. coli* „ „ 1, 2, 3, 4 и 5 — аналогично, как в п. b

Phot. 1. The disappearing of glucose (C) and the appearance of reducing substance *X* (B) in the bacterial cultures on Koser's medium (Chromatogramms)

a — *P. vulgaris*, 1 — after 0 h, 2—24 h, 3—48 h of incubation

a — *A. aerogenes*, 1 — after 0 h, 2—6 h, 3—12 h, 4—24 h, 5—48 h of incub.

c — *E. coli*, 1, 2, 3, 4 and 5 — as by „b",

Powyższe wstępne doświadczenia, wielokrotnie powtarzane, pozwoliły na wykazanie różnic w mechanizmie przemiany glukozy u tych trzech szczepów bakteryjnych.

II. PORÓWNANIE ZUŻYTKOWANIA GLUKOZY PRZEZ *P. VULGARIS, A. AEROGENES* I *E. COLI* W OBECNOŚCI KOBALTU

a) *P. vulgaris*

Zawiesinę *P. vulgaris,* dodaną do pożywki Kosera zawierającej chlorek kobaltawy w stężeniu $5 \cdot 10^{-3}$ M, inkubowano przez 48 godzin. Przyrost ilości bakterii oraz zmiany pH pożywki w czasie inkubacji były nieznaczne (Tabela II). Stwierdzono prawie całkowite zahamowanie zużytkowywania glukozy oraz wyraźną kumulację nieznanego związku redukującego o R_F 0,085 już w próbie 24 godzinnej (Fot. 2a).

Badania porównawcze, przeprowadzone równocześnie w tych samych warunkach na podłożach zarówno bezkobaltowych, jak i w obecności soli kobaltawych w stężeniu $1 \cdot 10^{-3}$ M, wykazały, że kumulacja nieznanego związku redukującego występuje znacznie wcześniej i w większym nasileniu w obecności inhibitora.

b) *A. aerogenes*

Zawiesinę *A. aerogenes* inkubowano na pożywce Kosera zawierającej kobalt w stężeniu $1 \cdot 10^{-3}$ M. Tabela II ilustruje mierny wzrost drobnoustroju oraz silne zakwaszenie podłoża podczas 48-godzinnej hodowli. Analiza chromatograficzna wykazała w porównaniu do hodowli bezkobaltowej pewne zahamowanie zużytkowywania glukozy oraz znacznie wyraźniej występującą

Tabela II

Zmiany zmętnienia i pH podłoża w obecności Co^{++}

Изменения в мутнении и pH субстрата в присутствии Co^{++}

The changes in the turbidity and hydrogen ion concentration of Koser's medium with Co salts during incubation of bacteria

P. vulgaris 5.10^{-3} M Co^{++}			*A. aerogenes* 1.10^{-3} M Co^{++}		
czas	pH	zmętnienie	czas	pH	zmętnienie
0^h	6,3	+	0^h	6,2	+
24^h	6,05	+	6^h	5,3	+
48^h	5,8	++	12^h	4,8	++
·	·	·	24^h	4,4	++
·	·	·	48^h	4,25	+++

i dłużej trwającą kumulację nieznanego związku redukującego (Fot. 2b). Niższe stężenia chlorku kobaltawego ($1 \cdot 10^{-4}$ M, $1 \cdot 10^{-5}$ M, $1 \cdot 10^{-6}$) nie wpływały w widocznym stopniu na wzrost bakterii i przemianę węglowodanową.

c) *E. coli*

W hodowlach *E. coli* na pożywce Kosera, zawierającej sole kobaltawe w stężeniu $1 \cdot 10^{-3}$ M, $5 \cdot 10^{-4}$ M, $5 \cdot 10^{-5}$ M, obserwowano nieznaczny przyrost ilości bakterii oraz duży spadek pH podłoża. Analiza chromatograficzna wykazała słabe zużytkowanie glukozy bez kumulacji związków pośrednich.

W równolegle przeprowadzonych badaniach Sakławskiej-Szymonowej (1953) na hodowlach *E. coli* w syntetycznej pożywce Kosera w obecności 8-oksychinoliny stwierdzono kumulację nieznanego związku

Errata

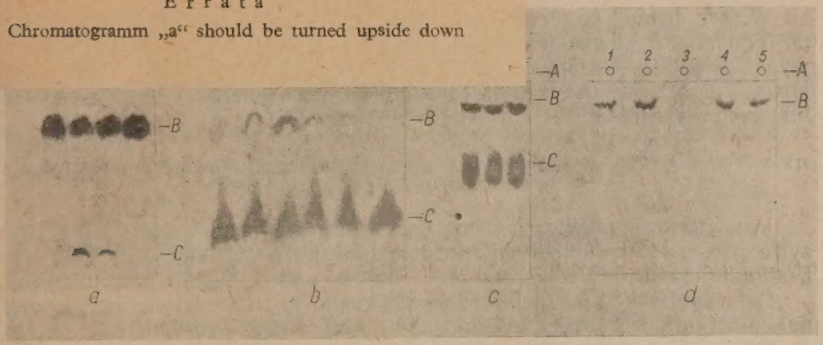
Fot. 2: fotografię „a" należy obrócić o 180°

Опечатки

Фот. 2 Фотографию следует повернуть на 180°

Errata

Phot. 2: Chromatogramm „a" should be turned upside down



Fot. 2 — Chromatogramy

a — Wpływ Co⁺⁺ na metabolizm glukozy u *P. vulgaris*

b — „ „ „ „ „ „ *A. aerogenes* objaśnienia patrz fot. 1.

c — Chromatogramy związku *X* w hodowli: *A. aerogenes* (1), *P. vulgaris* (2), *E. coli* w obecności soli kobaltu (3)

d — Zużytkowanie związku *X* przez: *A. aerogenes* (3), *A. aerogenes* w obecności Co⁺⁺ (2), *P. vulgaris* (5), *P. vulgaris* w obecności Co⁺⁺ (4), kontrola (1)

Фот. 2 — Хроматограммы

a — Влияние Co⁺⁺ на метаболизм глюкозы у *P. vulgaris*

b — Влияние Co⁺⁺ на метаболизм глюкозы у *A. aerogenes*

(объяснения см. фот. 1)

c — Хроматограммы соединения X в культурах: *A. aerogenes* (1), *P. vulgaris* (2), *E. coli* в присутствии солей кобальта (3)

d — Потребление соединения *X*; *A. aerogenes* (3), *A. aerogenes* в присутствии Co⁺⁺ (2), *P. vulgaris* (5), *P. vulgaris* в присутстви Co⁺⁺ (4), контроль (1)

Phot. 2 Chromatogramms

a — The effect of Co⁺⁺ on the glucose metabolism in *P. vulgaris*

b — „ „ „ „ „ „ „ „ *A. aerogenes*

For explanation see phot. 1

c — Chromatogramms of substance *X* in the cultures of: *A. aerogenes* (1), *P. vulgaris* (2), *E. coli* in the presence of cobalt ions (3)

d — The utilization of substance *X* by: *A. aerogenes* (3), *A. aerogenes* in the presence of Co⁺⁺ (2), *P. vulgaris* (5), *P. vulgaris* in the presence of Co⁺⁺ (4), uninoculated medium (1)

redukującego, którego cechy chromatograficzne były takie same, jak produktu wykrywanego obecnie w hodowlach *A. aerogenes* i *P. vulgaris*.

Działanie toksyczne 8-oksychinoliny wiąże się z usuwaniem metali z podłoża. Według D o l i n a i G u n s a l u s a (1951) dodatek kobaltu ma reaktywować czynność preparatów enzymatycznych. W niniejszej pracy badania nad *A. aerogenes*, przeprowadzone w obecności 8-oksychinoliny, nie potwierdziły obserwacji powyższych autorów.

W pierwszej serii doświadczeń hodowla zawierała 8-oksychinolinę w stężeniu $2{,}4 \cdot 10^{-4}$ M. Analiza chromatograficzna wykazała całkowite zużytkowanie glukozy już po 10 godzinach, a ponadto znaczne ilości nieznanego związku redukującego o R_F 0,085 w próbach po 5- i 10-godzinnej inkubacji.

W serii drugiej do pożywki Kosera zawierającej 8-oksychinolinę dodano po 6 godzinach inkubacji chlorek kobaltawy w stężeniu $1{,}2 \cdot 10^{-3}$ M. W tym wypadku analiza chromatograficzna wykazała znaczne zahamowanie zużytkowywania glukozy i duże ilości nieznanego związku, który w miarę dalszej inkubacji wyraźnie znikał.

III. WPŁYW KOBALTU NA WYTWARZANIE ACETOINY PRZEZ *A. AEROGENES* I *P. VULGARIS* NA POŻYWCE KOSERA I PODŁOŻU CLARKA

Porównawczo przeprowadzono doświadczenia na pożywce Clarka i pożywce Kosera z dodatkiem chlorku kobaltawego w stężeniu $1 \cdot 10^{-3}$ M oraz bez inhibitora. Próby pobierano po 6-, 12-, 24-, 48- i 96-godzinnej inkubacji. Część pożywki z każdej próby poddawano analizie chromatograficznej, natomiast na pozostałości wykonywano reakcję Voges-Proskauera.

Tabela III ilustruje zależność między intensywnością dodatniego odczynu Voges-Proskauera a kumulacją związku redukującego w hodowli *A. aerogenes*.

Tabela III

Zależność między odczynem VP a powstawaniem związku *X* w hodowli *A. aerogenes* na pożywkach Kosera i Clarka

Зависимость между реакцией Фогес-Проскауэра и образованием соединения *X* в культуре *A. aerogenes* на средах Козера и Клерка

The relationship between the amount of the reducing substance *X* and the intensity of Voges-Proskauer test in Koser's and Clark's media, during incubation of *A. aerogenes*

Pożywka	po 6h		po 12h		po 24h		po 48h		po 96h	
	związek *X*	VP	związek *X*	VP	związek *X*	VP	związek *X*	VP	związek *X*	VP
Koser	+	−	+	±	+	+	−	++	−	+++
Clark	−	+	−	+	−	++	−	+++	−	+++
Koser + Co··	+	−	+	−	+	±	+	+	±	++
Clark + Co··	−	−	−	−	−	−	−	±	−	+

Jak wynika z Tab. III, dodatni wynik reakcji Voges-Proskauera otrzymywano we wszystkich próbach z podłoża Clarka, natomiast na pożywce Kosera odczyn V. P. był tym intensywniejszy, im mniej było nieznanego związku w podłożu. Obecność chlorku kobaltawego w pożywce Kosera powodowała dłuższe utrzymywanie się nieznanego związku, przy czym dodatni odczyn Voges-Proskauera występował później i mniej intensywnie niż w hodowli bezkobaltowej. Natomiast w pożywce Clarka po inkubacji *A. aerogenes* w obecności kobaltu nie udało się stwierdzić nieznanego związku redukującego, pomimo że odczyn Voges-Proskauera wypadał o wiele słabiej i później niż w hodowli bezkobaltowej.

W tabeli IV zestawiono wyniki prób chromatograficznych oraz reakcji Voges-Proskauera, przeprowadzonych na hodowli *P. vulgaris*.

Tabela IV

Zależność między odczynem VP a powstawaniem związku *X* w hodowli *P. vulgaris* na pożywce Kosera i Clarka

Зависимость между реакцией Ф. П. и образованием соединения *X* в культуре *P. vulgaris* на средах Козера и Клерка

The relationship between the amount of the reducing substance *X* and the intensity of Voges-Proskauer test during incubation of *P. vulgaris* in Koser's and Clark's media

Pożywka	po 6h		po 12h		po 24h		po 48h		po 96h	
	związek *X*	VP	związek *X*	VP	związek *X*	VP	związek *X*	VP	związek *X*	VP
Koser	—	—	+	—	—	—	+	—	+	±
Clark	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Koser + Co⁺⁺	—	—	+	—	+	—	+	—	+	—
Clark + Co⁺⁺	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Z powyższego zestawienia wynika, że reakcja Voges-Proskauera daje słabo dodatni odczyn tylko po długiej inkubacji *P. vulgaris* na bezkobaltowych podłożach Kosera i Clarka. W obecności chlorku kobaltawego odczyn Voges-Proskauera jest ujemny. Nieznany związek redukujący występuje zawsze w podłożu Kosera, a brak go w hodowli na pożywce Clarka.

Jak wiadomo, pożywka Kosera różni się od pożywki Clarka obecnością większej ilości soli mineralnych i brakiem peptonu. Dalsze więc badania miały na celu wykazanie, czy różnica w składzie pożywek może mieć wpływ na kumulację nieznanego związku.

Doświadczenie przeprowadzono w następujący sposób: z pożywki Kosera usuwano kolejno poszczególne substancje, wchodzące w jej skład, oraz dodawano pepton. Na powyższych podłożach inkubowano zawiesinę *A. aerogenes*. Po 6-, 24- i 48-godzinnej inkubacji w 37° przeprowadzano odczyn Voges-Proskauera oraz analizę chromatograficzną. Wyniki zostały ujęte w tabeli V.

Jak wynika z tabeli, różnice w składzie soli mineralnych nie wpływały na gromadzenie się nieznanego związku redukującego, natomiast związek ten nigdy nie gromadził się w obecności peptonu w pożywce Kosera.

Powyższe rezultaty nasunęły przypuszczenie, że gromadzenie się związku redukującego jest związane z brakiem w podłożu azotu aminowego. Dlatego też wykonano dalsze doświadczenia, w których dodawano do pożywki Kosera różne aminokwasy, jak cysteinę, histydynę i alaninę. W obecności któregokolwiek z wymienionych aminokwasów zużytkowanie glukozy było znacznie przyśpieszone bez kumulacji nieznanego związku.

Za pomocą metody chromatograficznej określono, że nieznany związek, występujący w hodowli *A. aerogenes*, jest identyczny z produktem pojawiającym się w hodowli *P. vulgaris* oraz ze związkiem *X* otrzymywanym na podłożu Kosera u *E. coli* przy zatruciu jodooctanowym (Fot. 2c). Jak wynika z pracy Opieńskiej-Blauth i współpracowników (1953), badany związek *X*, wyizolowany z podłoża, daje wprawdzie dodatni odczyn Voges-Proskauera, lecz nie jest identyczny z syntetyczną acetoiną. Natomiast z da-

Tabela V

Wpływ składu pożywki na powstawanie związku *X* i na odczyn VP w hodowli *A. aerogenes*
Влияние состава среды на образование соединения *X* и реакции Ф. П. в культуре *A. aerogenes*
The influence of the composition of media upon the accumulation of reducing substance *X* and upon Voges-Proskauer test

Podłoże	po 6h		po 24h		po 48h	
	związek *X*	VP	związek *X*	VP	związek *X*	VP
Koser	+	—	+	+	—	++
Koser bez NaCl	+	—	+	+	—	++
Koser bez NaCl + pepton	—	+	—	++	—	+++
Koser bez $MgSO_4$	+	—	+	+	—	++
Koser bez $MgSO_4$ + pepton	—	+	—	++	—	+++
Koser bez K_2HPO_4	+	—	+	+	—	++
Koser bez K_2HPO_4 + pepton	—	+	—	++	—	+++
Koser bez $NH_4H_2PO_4$ + pepton	—	—	±	±	±	+
Koser + pepton	—	+	—	++	—	+++
Clark	—	+	—	++	—	+++

nych doświadczalnych niniejszej pracy wynika, że reakcja Voges-Proskauera, przeprowadzona na hodowli *A. aerogenes*, wypada intensywniej w tych próbach, w których kontrola chromatograficzna wykazała całkowite zużytkowanie glukozy oraz znikanie nieznanego związku z podłoża. Należało więc wyjaśnić, czy zużytkowanie związku redukującego następuje na skutek braku glukozy w podłożu, czy też stanowi on przejściowy produkt przemiany u *A. aerogenes*.

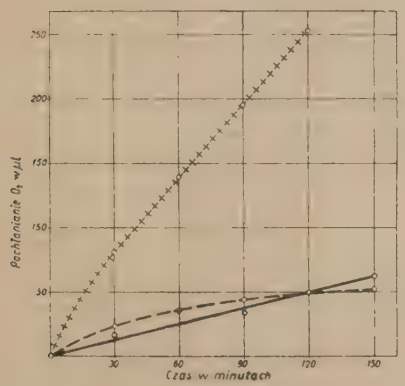
W tym celu przeprowadzono następujące doświadczenie: Zawiesinę *A. aerogenes* inkubowano w 200 ml pożywki Kosera. W różnych czasach inkubacji odlewano sterylnie po 10 ml pożywki. Próby poddane analizie chromatograficznej wykazały obecność glukozy przez cały czas inkubacji, natomiast plamy nieznanego związku redukującego pojawiły się tylko w próbach po 6, 12 i 24 godzinach.

Końcowe badania miały wykazać, czy wyizolowany związek, dodany do hodowli *A. aerogenes* jako jedyne źródło węgla, będzie zużytkowany przez bakterie. Inkubację przeprowadzono w aparacie Warburga, obserwując równocześnie zużycie tlenu.

Z jednodniowej hodowli *A. aerogenes* na agarach skośnych przygotowano homogenną zawiesinę w 1/15 M buforze fosforanowym w ilości 30 mg suchej wagi bakterii na 1,5 ml zawiesiny. Naczyńka Warburga zawierały po 1,5 ml zawiesiny, 1,0 ml wodnego roztworu badanego związku redukującego. Do poszczególnych naczyniek dodano po 0,5 ml roztworu chlorku kobaltawego w stężeniu $1 \cdot 10^{-3}$ M bądź odpowiednią ilość wody destylowanej. Kontrolę stanowiła sama zawiesina bakteryjna.

Wykres I przedstawia ilość pobranego tlenu przez *A. aerogenes* w czasie 2,5 godzin inkubacji. Maksymalne zużycie tlenu przez drobnoustrój wykazuje próba zawierająca badany związek redukujący bez dodatku kobaltu.

Wykres I



Rys. 1. — Wpływ soli kobaltu na zużycie tlenu przez *A. aerogenes*

Рис. 1. — Влияние соли кобальта на потребление кислорода *A. aerogenes*

Fig. 1. The effect of cobalt ions on the oxygen consumption by *A. aerogenes*

+ + zużycie tlenu na pożywce bez kobaltu	потребление кислорода на среде без кобальта	Oxygen consumption in medium without cobalt
— — zużycie tlenu na pożywce w obecności kobaltu	потребление кислорода на среде в присутствии кобальта	Oxygen consumption in medium with cobalt
— oddychanie endogeniczne	эндогенное дыхание	endogenic respiration

Zawartość naczyniek po inkubacji poddano analizie chromatograficznej. Stwierdzono całkowity brak związku redukującego w próbie, w której zużycie tlenu było największe (Fot. 2d). Dodatni odczyn Voges-Proskauera był bardziej intensywny po inkubacji *A. aerogenes* bez kobaltu.

Podobne doświadczenie przeprowadzono ze znacznie mniej gęstą zawiesiną *P. vulgaris*.

Pochłanianie tlenu było niewielkie, a chromatograficznie nie stwierdzono zużytkowania przez *P. vulgaris* nieznanego związku redukującego (Fot. 2d).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wykazano, że *A. aerogenes* najszybciej zużytkowuje glukozę z podłoża, *E. coli* nieco wolniej, a najwolniej *P. vulgaris*.

Równocześnie metodą chromatografii bibułowej udało się wykryć powstawanie nowego, nieznanego związku redukującego w hodowlach *A. aerogenes* i *P. vulgaris*. U *A. aerogenes* związek ten występował w podłożu przejściowo i w miarę przedłużania inkubacji znikał. U *P. vulgaris* natomiast utrzymywał się przez cały czas 48-godzinnej inkubacji.

W obecności soli kobaltawych w stężeniu $1 \cdot 10^{-3}$ M stwierdzono częściowe zahamowanie wzrostu bakteryjnego i zwiększone gromadzenie się nieznanego związku redukującego. Wyniki tych doświadczeń są zgodne ze spostrzeżeniami Schadego (1949) oraz Abelsona i Aldousa (1950), którzy wykazali hamujący wpływ kobaltu na wzrost *A. aerogenes*, *E. coli*, *Torulopsis utilis* i *Aspergillus niger*.

Związek redukujący, który gromadzi się w warunkach prawidłowego wzrostu *A. aerogenes* i *P. vulgaris*, jest identyczny ze związkiem *X*, dającym dodatni odczyn Voges-Proskauera, wykrytym przez nas w hodowli *E. coli* w obecności jodooctanu (Opieńska-Blauth i współpracownicy, 1953). Do końcowych produktów przemiany węglowodanowej *A. aerogenes* należy między innymi acetoina. Również i w hodowlach *P. Morgani* Mc Elroy i Dorfman (1948) wykryli acetoinę przy deficycie pantotenianu.

Powyższe dane pozwalają przypuszczać, że nieznany związek redukujący pozostaje w bliskim stosunku do acetoiny. Przypuszczenia te potwierdziły wyniki reakcji Voges-Proskauera, która występuje w hodowli *A. aerogenes* najintensywniej dopiero wtedy, gdy związek *X* zniknie już całkowicie z podłoża. Bardzo słaba reakcja Voges-Proskauera w hodowli *P. vulgaris*, w której związek redukujący utrzymuje się przez cały okres inkubacji, podkreślałaby jeszcze wyraźniej zależność genetyczną między acetoiną a nieznanym związkiem redukującym. Kobalt zwiększał kumulację nieznanego związku redukującego, jednocześnie dodatni odczyn Voges-Proskauera występował znacznie później.

Na szczególną uwagę zasługują badania porównawcze, przeprowadzone na podłożu Kosera i Clarka. Na podłożu Clarka nie stwierdzono nigdy — zarówno w hodowli *A. aerogenes*, jak i *P. vulgaris* — obecności redukującego związku *X*, nawet po dodaniu soli kobaltawych. Dodatni odczyn Voges-Proskauera występował też znacznie wcześniej niż na podłożu Kosera. Natomiast po dodaniu kobaltu do hodowli *A. aerogenes* na pożywce Clarka nastąpiło wyraźne opóźnienie w występowaniu reakcji Voges-Proskauera; odczyn ten nie wystąpił zupełnie w hodowli *P. vulgaris*. Spostrzeżenia te pozwalają przypuszczać, że kobalt hamuje przemianę nieznanego związku *X*, który, jak się wydaje, mógłby być najbliższym prekursorem acetoiny.

W dalszych badaniach wykazano, że różnice w gromadzeniu się związku redukującego w obu podłożach spowodowane są przez brak azotu aminowego w podłożu Kosera. Z chwilą bowiem gdy dodano do pożywki Kosera pepton lub jakikolwiek z aminokwasów, nieznany redukujący związek *X* nie pojawiał się.

Końcowe doświadczenia wykazały, że wyizolowany z hodowli *A. aerogenes* i *P. vulgaris* redukujący związek *X*, dodany jako jedyne źródło węgla do

zawiesiny *A. aerogenes*, został całkowicie zużytkowany. Przemianie tej towarzyszyło znaczne zużycie tlenu i pojawienie się dodatniej reakcji Voges-Proskauera. W obecności kobaltu zużytkowanie nieznanego związku było zahamowane.

W przeciwieństwie do *A. aerogenes* — *P. vulgaris* nie wykorzystywał tego związku.

Całość badań pozwala wysunąć przypuszczenie, że nieznany związek redukujący, wykrywany metodą chromatografii bibułowej w podłożu Kosera w hodowlach *A. aerogenes* i *P. vulgaris*, jest prekursorem acetoiny.

И. Мадецка - Борковска

ВЛИЯНИЕ КОБАЛЬТА НА ОБМЕН УГЛЕВОДОВ И ОБРАЗОВАНИЕ АЦЕТОЙНА В ЖИДКИХ КУЛЬТУРАХ БАКТЕРИЙ

Резюме

Автором были произведены исследования над влиянием кобальтовых солей на рост и обмен углеводов в культурах: *E. coli*, *A. aerogenes* и *P. vulgaris* на средах Козера и Клерка. Рост бактерий определялся нефелометрическим методом, измерениями изменений pH (потенциометрически), а потребление глюкозы по методу хроматографии распределения на бумаге. Во время двухсуточной инкубации обнаружено в культурах *A. aerogenes* и *P. vulgaris* накопление неизвестного восстанавливающего соединения, которое в культуре *A. aerogenes* по мере удлинения времени инкубации постепенно исчезало, а в культуре *P. vulgaris* его количество не изменялось. В культуре *E. coli* это соединение никогда не появлялось при нормальных условиях роста. Общие хроматографические черты неизвестного восстанавливающего соединения появляющегося в условиях нормального роста в культурах *A. aerogenes* и *P. vulgaris* на среде Козера и соединения *X*, обнаруженного в культуре *E. coli* тоже на среде Козера, но лишь после отравления иодуксусной кислотой указывают на одинаковую природу обоих соединений. Положительная реакция Фогес-Проскауэра, выступающая в элюатах обоих этих соединений, указывает, что эти соединения по своему химическому характеру близки ацетоину. Усиливающаяся реакция Фогес-Проскауэра в культуре *A. aerogenes*, выступающая по мере удлинения продолжительности инкубации и исчезания восстанавливающего соединения из среды свидетельствует, быть может, о том, что восстанавливающее соединение является предвестником синтеза ацетоина.

Дальнейшим доказательством правильности такого предположения являются результаты экспериментов, на основании которых установлено, что элюат хроматограмма восстанавливающего соединения, прибавленный к культуре в качестве источника угля, потребляется *A. aerogenes* при значительном использовании кислорода и одновременном выступлении положительной реакции Ф. П. Кобальтовые соли при концентрации 1×10^{-3} М действуют тормозяще на рост бактерий, влияют на увеличенную кумуляцию неизвестного восстанавливающего соединения и замедляют его обмен.

I. Madecka-Borkowska

THE INFLUENCE OF COBALT IONS UPON THE GLUCOSE METABOLISM AND ACETOIN FORMATION IN BACTERIAL CULTURES

Summary

The effect of cobalt ions on the growth and glucose metabolism of *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* and *Proteus vulgaris* in fluid Koser's and Clark's media was studied.

The changes in the amount of glucose in medium were determined by paper-chromatography.

After 48-hours incubation of *A. aerogenes* and *P. vulgaris* the accumulation of an unknown reducing substance in the culture was observed. This reducing substance disappeared in older cultures of *A. aerogenes* but not in *P. vulgaris* cultures.

The reducing substance *X* was never showed to occur in cultures of *E. coli* in normal conditions. On the other hand the substance *X* was found in *E. coli* cultures in the presence of iodacetic acid.

The eluates made from chromatogramms of reducing substance *X* as well from *A. aerogenes* and *P. vulgaris* cultures as from *E. coli* culture gave positive Voges-Proskauer test. It was then quite probable that substance *X* is related to acetoin.

On the probable role of reducing substance *X* as a precursor of acetoin points also the observation in which was showed, that the disappearing of substance *X* in *A. aerogenes* cultures resulted in appearance of positive Voges-Proskauer test.

In this connection must be noted that the reducing substance *X* added to the medium was utilized by *A. aerogenes* as a sole source of carbon and of energy. Cobalt ions in the concentration 1×10^{-3} M retardet the growth of bacteria and, as the author suppose, the transformation of the unknown reducing substance *X* into acetoin.

LITERATURA

1. Abelson P. and Aldous E. 1950: Ion antagonisms in microorganisms: Interference of normal magnesium metabolism by nickel, cobalt, cadmium, zinc and manganese, *J. Bact.* **60** : 4.
2. Dolin M. J. and Gunsalus J. C. 1951: Pyruvic acid metabolism and actoin forming system in *Streptococcus faecalis, J. Bact.* **62** : 199.
3. Mc Elroy and Dorfman A. 1948: The role of pantotenic acid in the metabolism of pyruvate by *Proteus morganii, J. Biol. Chem.* **173** : 805.
4. Miura Y. et Nakamura Y. 1951: Effets du cobalt sur la ribonuclease, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **33** : 10.
5. Opieńska-Blauth J, Borkowski T. i Madecka-Borkowska I. 1953: Wykrycie związku o dodatniej reakcji Voges-Proskauera w płynnej hodowli *E. coli* w obecności niektórych inhibitorów, *Acta Microbiol. Polon.*, **2** : 263.
6. Opieńska - Blauth J. i Madecka - Borkowska I. 1950: Rozdzielanie cukrowców o zbliżonym współczynniku R_F z mieszanin metodą chromatografii bibułowej, *Acta Physiol. Polon.* **1** : 134.
7. Opieńska - Blauth J., Madecka - Borkowska I., i Borkowski T. 1951: Badania porównawcze nad metabolizmem laktozy, glukozy w płynnych hodowlach pałeczki okrężnicy (*E. coli*). *Acta Physiol. Polon.*, **2** : 123.
8. Sakławska - Szymonowa O., 1953: Wpływ miedzi na wzrost i zużytkowanie glukozy w płynnych hodowlach *E. coli. Acta Microbiol. Polon,* **2**: 99.
9. Schade A., Levy H. a. Levison V., 1950; The effect of cobalt on the activity of certain enzymes in homogenates of rat tissue, *Arch Biochem.*, **27** : 34.
10. Westerfield W. W., 1945: A colorimetric determination of blood acetoin, *J. Biol. Chem.*, **161** : 435.

Acta Microbiologica Polonica Vol. II, No 4

J. Opieńska-Blauth, T. Borkowski i *I. Madecka-Borkowska*

WYKRYCIE ZWIĄZKU O DODATNIEJ REAKCJI VOGES-PROSKAUERA W PŁYNNEJ HODOWLI *ESCHERICHIA COLI* W OBECNOŚCI NIEKTÓRYCH INHIBITORÓW

Z Zakładu Chemii Fizjologicznej A. M. w Lublinie
Wpłynęło dn. 15.V.1953 r.

WSTĘP

Podczas badań nad przemianą węglowodanową w płynnych hodowlach pałeczki okrężnicy na podłożu Kosera w obecności kwasu jodooctowego (0,0025 M) (Opieńska-Blauth, Madecka-Borkowska i Borkowski, 1951) stwierdziliśmy metodą chromatografii bibułowej gromadzenie się w podłożu nieznanego związku redukującego, nie spotykanego w próbach kontrolnych. Podobnie w obecności seleninu ($1{,}10^{-3}$ M) (Opieńska-Blauth i Iwanowski, 1952), jak również i w obecności 8-oksychinoliny ($1{,}10^{-3}$ M) (Sakławska-Szymonowa, 1953) wykrywano chromatograficznie związek *X* o tych samych cechach. Zarówno w obecności jodooctanu, jak i seleninu uzyskiwano pełną reaktywację wzrostu i zużytkowywania glukozy za pomocą cysteiny. Należałoby z tego wnioskować, że zablokowaniu ulegają przede wszystkim czynne grupy tiolowe.

Tematem niniejszej pracy jest:

a) zidentyfikowanie nieznanego związku, występującego w obecności niektórych inhibitorów;

b) próba wyjaśnienia mechanizmu powstawania nowego związku *X* w zestawieniu z przyjętymi schematami dla przemiany węglowodanowej pałeczki okrężnicy i innych pokrewnych drobnoustrojów;

c) stwierdzenie, czy zmiany w składzie końcowych metabolitów w płynnej hodowli *Escherichia coli* na podłożu Kosera w obecności jodooctanu sodowego występują na skutek zmian w strukturze powierzchniowej komórek, czy też pochodzą ze zmian zachodzących wewnątrz komórek.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

MATERIAŁ DOŚWIADCZALNY

1. Podłoże Kosera z zawiesiną *E. coli* po 48-godzinnej inkubacji w obecności jodooctanu sodowego (0,0025 M).

2. Wyciągi pirydynowe, sporządzone z podłoża zawierającego największe ilości badanego związku *X*.

Sposób otrzymywania: 100 ml pożywki, zawierającej związek *X*, po oddzieleniu za pomocą wirowania od komórek bakteryjnych, odparowywano w próżni w temp. 40 — 50°.

Suchą pozostałość ekstrahowano kilkakrotnie pirydyną. Wyciągi pirydynowe zawierały glukozę, nieznany związek *X* oraz ślady fosforanów mineralnych.

3. Eluaty sporządzane z chromatogramów. Sposób otrzymywania: 10 ml pożywki Kosera zawierającej badany związek wkraplano liniowo na całej szerokości paska bibuły chromatograficznej. Po spływie określano dokładnie położenie związku *X* przez odcięcie z chromatogramu wąskiego paska i wywołaniu go testem redukującym. Z pozostałego chromatogramu wycinano tę część bibuły, która odpowiadała położeniu związku *X*, i poddawano elucji wodnej. W ten sposób otrzymane eluaty wodne, zagęszczone do objętości 1 ml, zawierały czysty związek *X*, niekiedy ze śladami fosforanu mineralnego.

4. Preparaty acetonowe, otrzymane z zawiesin pałeczki okrężnicy po inkubacji na podłożu Kosera w obecności jodooctanu sodowego (0,0025 M). (Opis sposobu przygotowania — patrz część następna).

W badaniach posługiwano się głównie chromatografią zstępującą, stosując bibułę Whatmana nr 1 oraz układy: butanol-pirydyna-woda (45:25:40); (Opieńska-Blauth i Madecka-Borkowska, 1950, Opieńska-Blauth, Borkowski i Madecka-Borkowska, 1952).

OPIS POSZCZEGÓLNYCH BADAŃ

I. Wpływ pH na powstawanie metabolitu

W pierwszej części pracy przeprowadzono badania nad wpływem różnych stężeń jonów wodorowych na powstawanie związku *X*. (Chromatogram I).

Doświadczenia nasze wykazały, że związek *X* gromadzi się w podłożu Kosera w obecności kwasu jodooctowego (0,0025 M) tylko przy odczynie kwaśnym, w granicach pH od 4,8 do 7,0. W tych doświadczeniach, w których pH stabilizowane za pomocą węglanu wapniowego stale przewyższało 7,0, związek *X* nigdy nie powstawał.

Już w poprzedniej pracy zwrócono uwagę, że dodanie śladów kwasu pantotenowego do hodowli *E. coli*, zawierającej jodooctan działa silnie aktywująco na tworzenie się związku *X*. Obecnie potwierdzono te doświadczenia i ponadto wykazano, że taką samą rolę spełnia β-alanina, która — jak wiadomo — wchodzi w skład cząsteczki kwasu pantotenowego (Chromatogram II).

II. Doświadczenia na preparatach acetonowych

Przygotowano jednodniową hodowlę *E. coli* na agarze odżywczym w dwóch flaszkach Roux. Zawiesinę spłukaną z agarów przeniesiono na 2 litry pożywki Kosera z jodooctanem (0,0025 M) i śladami kwasu pantotenowego i całość poddano 48-godzinnej inkubacji w temp. 37°. Równolegle przygotowano próbę kontrolną, inkubowaną bez dodatku inhibitora i kwasu pantotenowego. Po inkubacji oddzielano masę bakteryjną od podłoża za pomocą 30-minutowego odwirowania (3 — 5 tys. obrotów). Masę bakteryjną po trzykrotnym przemyciu płynem fizjologicznym przepłukiwano pięciokrotnie zimnym acetonem w ciągu kilku minut. Po odparowaniu acetonu i wysuszeniu proszek acetonowy ucierano w moździerzyku agatowym z dodatkiem 1,5 ml wody destylowanej. Otrzymaną zawiesinę wodną poddano następnie odwirowaniu. W płynie znajdującym się nad osadem stwierdzono znaczne ilości białka. Przesącz po odbiałczeniu 10-procentowym roztworem kwasu trójchlorooctowego badano chromatograficznie.

W jednym z doświadczeń stwierdziliśmy — obok plam bliżej nieokreślonych związków o charakterze redukującym — plamę charakterystyczną dla kwasu jodooctowego (R_F i zabarwienie fiołkowe plamy). W innym doświad-

czeniu stwierdziliśmy na chromatogramach plamę odpowiadającą zarówno położeniem, jak barwą i kształtem badanemu przez nas związkowi *X*. Kontrolne preparaty acetonowe z hodowli bez inhibitora plam chromatograficznych związku *X* i kwasu jodooctowego nie wykazały (Chromatogram III).

III. Próby identyfikacji związku X

Nasze zainteresowania budziły przede wszystkim związki redukujące, znane ze schematu E. M. P.: a) estry heksozo-6-fosforowe, b) fosfotriozy, c) ketokwasy, d) redukujące końcowe produkty fermentacji *E. coli* (kwas mrówkowy) — występujące jako produkty pośrednie w przemianie glukozy u bakterii. Szczególną uwagę zwróciliśmy na pochodne fosforowe.

Do badań stosowano eluaty zawierające związek *X*, wyciągi pirydynowe z podłoża Kosera i samo podłoże Kosera. Z badanego materiału usuwano fosforany mineralne za pomocą octanu barowego i poddawano analizie chromatograficznej na związki fosforowe (Opieńska-Blauth, Borkowski i Madecka-Borkowska, 1952).

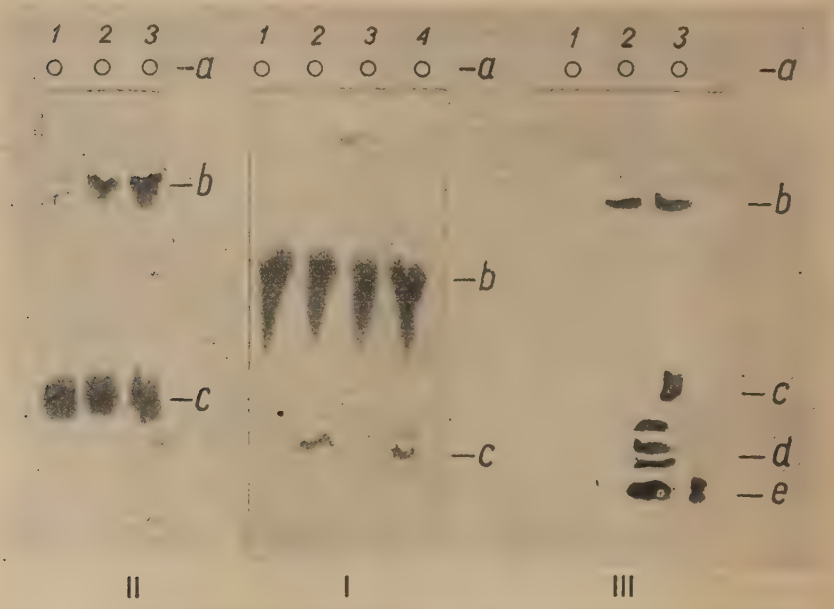
Wielokrotnie powtarzane próby nie wykazały w żadnym wypadku związków zawierających fosfor organiczny związany (Chromatogram IV). Równoległe badania przeprowadzane na wyciągach pirydynowych, mające na celu określenie fosforu całkowitego i mineralnego metodą Fiske-Subbarowa, wykazały brak fosforu organicznie związanego, co potwierdziło wyniki analizy chromatograficznej.

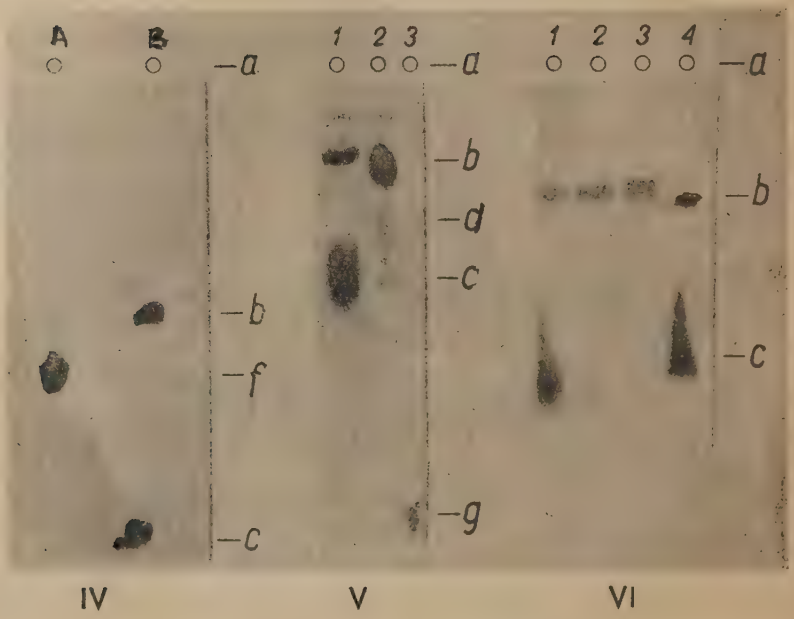
Niektóre cechy chromatograficzne badanego związku *X*, jak barwa plamy, opóźnione w porównaniu z glukozą występowanie plamy na chromatogramach, wskazywałyby na jego charakter ketonowy. Na niealdehydowy charakter badanego związku wskazuje również ujemny wynik reakcji ze zredukowaną fuksyną. Analiza chromatograficzna zakwaszonych kwasem siarkowym wyciągów eterowych, eluatów i podłoża nie pozwoliła wykryć również i kwasu pyrogronowego tak za pomocą testu redukującego, jak i testów kwasowych (Opieńska-Blauth, Sakławska-Szymonowa i Kański, 1950). Ujemny wynik czułej reakcji z nitroprusydkiem sodowym na eluatach związku *X* pozwolił ostatecznie wykluczyć kwas pyrogronowy z szeregu przewidywanych związków.

Ujemny wynik testów barwnych dla wykrycia cukrowców, stosowanych na bibule według Opieńskiej-Blauth i współpracowników (1952), jak test anilinowy, rezorcynowy i benzydynowy, pozwolił wykluczyć cukrowce o łańcuchu 5- i 6-węglowym. Ujemny wynik próby Molischa przeprowadzonej na eluacie potwierdził wynik badań chromatograficznych.

W końcu — mimo pozornego podobieństwa kształtu i barwy plamy oraz zbliżonego współczynnika R_F związku *X* i kwasu mrówkowego — dokładna analiza porównawcza eluatów obu związków pozwoliła wykluczyć również i kwas mrówkowy z szeregu prawdopodobnych związków.

Wśród metabolitów i ostatecznych produktów, otrzymywanych podczas fermentacji pewnych drobnoustrojów, spotykamy jeszcze inne związki ketonowe o charakterze redukującym, jak na przykład acetoinę i dwuacetyl. Związki wyżej wymienione występują jako ostateczne produkty fermentacji, np. u *Aerobacter aerogenes, Aerobacter indologenes, Streptococcus faecalis*. Związki te spotykamy również w sfermentowanej śmietanie, w drożdżach i tkankach zwierzęcych. Swoistymi odczynami dla acyloin są: test barwny Voges-Proskauera, często stosowany w diagnostyce bakteriologicznej, oraz reakcja z hydroksylaminą w obecności soli niklawych (Feigl, 1947).


1 2 3
-a
-b
-c
II
1 2 3 4
-a
-b
-c
I
1 2 3
-a
-b
-c
-d
-e
III


A
B
-a
-b
-f
-c
IV
1 2 3
-a
-b
-d
-c
-g
V
1 2 3 4
-a
-b
-c
VI

Objaśnienia do chromatogramów

Układ: butanol — pirydyna — woda (45 : 25 : 40), metoda zmodyfikowana $AgNO_3$. W n-rze IV — butanol — pirydyna — CCl_3COOH 5% (40 : 25 : 45); wywoływacz: A — molibdenian, B — $AgNO_3$.

b — związek *X*, c — glukoza, d — nieznane związki redukujące, e — kwas jodooctowy, f — ortofosforan, g — dwuacetyl.

Nr I — Wpływ pH na gromadzenie się związku *X*

1. Hodowla z końcowym pH — 5,95
2. „ „ „ „ — 7,1
3. „ „ „ „ — 4,8
4. „ „ „ „ — 3,6

Nr II — Wpływ kwasu pantotenowego i β-alaniny

1. Hodowla z CH_2JCOOH
2. „ „ „ + β-alanina
3. „ „ + kwas pantotenowy

Nr III — 1. Kontrolny dezintegrat acetonowy *E. coli*
2. Dezintegrat acetonowy *E. coli* po hodowli z CH_2JCOOH
3. Podłoże po oddzieleniu komórek

Nr IV — Hodowla *E. coli* w obecności CH_2JCOOH

Nr V — 1. Hodowla *E. coli* z CH_2JCOOH
2. sfermentowana, odtłuszczona i odbiałczona śmietana
3. dwuacetyl

Nr VI — Wykorzystanie związku *X* przez *E. coli*
1. Kontrola: poż. Kosera z małą ilością glukozy i związkiem *X*
2. Pożywka Kosera ze związkiem *X* po inkubacji z *E. coli*
3. Pożywka Kosera z glukozą i związkiem *X* po inkubacji z *E. coli*
4. Hodowla *E. coli* z CH_2JCOOH

Система. бутанол — пиридин — вода (45 : 25 : 40), метод видоизмененный $AgNO_3$. В Нр. IV — бутанол-пиридин — CCl_3COOH 5% (40 : 25 : 45); проявитель: **А — соль молибденовой кислоты, В — $AgNO_3$**

b — соединение *X*, c — глюкоза, d — неизвестные восстанавливающие соединения, e — иодуксусная кислота, f — соли ортофосфорной кислоты, g — диацетил

Нр. I. **Влияние pH на накапливание соединения *X***
1. **Культура с конечным pH — 5,95**
2. **Культура с конечным pH — 7,1**
3. **Культура с конечным pH — 4,8**
4. **Культура с конечным pH — 3,6**

Нр. II. **Влияние пантотеновой кислоты и β-аланина**
1. **Культура с CH_2JCOOH**
2. **Культура с CH_2JCOOH + β-аланин**
3. **Культура с CH_2JCOOH + пантотеновая кислота**

Нр. III. 1. Контрольный ацетоновый дезинтеграт
2. Ацетоновый дезинтеграт *E. coli* после культивирования с CH_2JCOOH
3. Субстрат после отделения клеток

Нр. V. — 1. Культура *E. coli* с CH_2JCOOH
2. Ферментированная, лишенная жиров и белков сметана
3. Диацетил

Нр. VI. Использование соединения *X E. coli*

1. Контроль: среда Козера с небольшим количеством глюкозы и соединением *X*
2. Среда Козера с соединением *X* после инкубации с *E. coli*
3. Среда Козера с глюкозой и соединением *X* после инкубации с *E. coli*
4. Культура *E. coli* с CH_2JCOOH

Chromatogramms

Solvent mixture — n-butanol-piridine-water (45 : 25 : 40). Modified $AgNO_3$ test. In No IV — butanol-piridine-trichloracetic acid 5% (40 : 25 : 45); developing reagent: A — molibdenate, B — $AgNO_3$.
b — reducing *X*, c — glucose, d_1 — unknown reducing substances, e — iodacetic acid, f — ortophosphate, g — diacetyl

No I — The effect of pH on the accumulation of the substance *X*
1. the final pH of medium — 5,95
2. „ „ „ „ „ — 7,1
3. „ „ „ „ „ — 4,8
4. „ „ „ „ „ — 3,6

No II — The effect of pantothenic acid and β-alanine
1. incubation in the presence of CH_2JCOOH
2. „ „ „ „ „ „ and β-alanine
3. „ „ „ „ „ „ „ pantothenic acid

No III — 1. Acetone desintegrate of *E. coli* cells
2. Acetone desintegrate of *E. coli* cells incubated previously in the presence of CH_2JCOOH
3. Medium without bacterial cells

No IV — Incubation of *E. coli* in the presence of CH_2JCOOH

No V — 1. Medium after the incubation of *E. coli* in the presence of CH_2JCOOH
2. deproteinated sour cream-milk
3. diacetyl solution

No VI — The utilization of substance *X* by *E. coli*
1: Koser's medium with glucose and substance *X*
2: Koser's medium with substance *X* after incubation of *E. coli*
3: Koser's medium with glucose and substance *X* after incubation of *E. coli*
4: Koser's medium after incubation of *E. coli* in the presence of CH_2JCOOH

Do badań porównawczych użyliśmy oprócz eluatu zawierającego związek *X*, śmietanę poddaną kilkudniowej fermentacji z kwasem cytrynowym (Supińska - Jakubowska, 1952), syntetyczne preparaty acetoiny (otrzymane z Zakładów Chemii Organicznej Politechniki Wrocławskiej i Łódzkiej) i czysty dwuacetyl. Analiza chromatograficzna wykazała w odbiałczonej i odtłuszczonej pozostałości ze śmietany dużą plamę redukującą, której położenie i szybkość występowania odpowiadałyby badanemu przez nas związkowi *X* (Chromatogram V). Niestety dla używanych przez nas syntetycznych preparatów acetoiny nie udało się określić współczynnika R_F, ponieważ w stosowanych warunkach chromatograficznych nie otrzymywano plam testem redukującym. Dla dwuacetylu otrzymano w tych samych warunkach plamę, której wysoki współczynnik R_F znacznie odbiegał od współczynnika R_F, oznaczonego dla produktu redukującego ze śmietany i dla badanego związku *X* (Chromatogram V).

Tabela I

Wpływ hydrolizy, utlenienia i redukcji na acetoinę i substancję *X*

Влияние гидролиза, окисления в восстановления на ацетоин и соединение *X*

The effect of hydrolysis, oxidation and reduction on the acetoin and on the substance *X*

Badany produkt	Hydroliza 0,5 N HCl, 1^h w 100^0		Hydroliza 2N NaOH, 20 min w 40^0		Utlenienie H_2O_2 w środowisku kwaśnym w 100^0		Redukcja H_2 w temp. pokojowej	
	$AgNO_3$	V. P.	$AgNO_3$	V. P.	$AgNO_3$	V. P.	$AgNO_3$	V. P.
Związek *X*	+	±	+	+	+	biały osad	+	±
Redukujący związek ze śmietany	+	+	+	+	+	biały osad	+	+
Acetoina	−	+	−	+	−	biały osad	dwie plamy	+

Wspólną cechę łączącą wszystkie porównywane związki (związek *X* związek redukujący ze śmietany, acetoinę syntetyczną i dwuacetyl) stanowił dodatni wynik reakcji Voges-Proskauera, przeprowadzanej według modyfikacji opisanej dla celów analizy ilościowej przez Westerfielda (1945).

Za pomocą reakcji swoistej dla acyloin z hydroksylaminą i solami niklawymi nie uzyskano wyniku pozytywnego dla eluatów związku *X* i śmietany. Podkreślić jednak należy, że czułość powyższej reakcji może być zbyt mała w stosunku do nieznacznej ilości związków, jakie otrzymywano w eluatach.

Wprawdzie dodatni wynik reakcji Voges-Proskauera nasuwał już dość wyraźne przypuszczenia co do chemicznego charakteru badanego przez nas związku, ale ujemny wynik reakcji z solami niklu oraz pewne różnice chromatograficzne, istniejące między związkiem *X* a syntetycznymi preparatami

acetoiny, nie pozwalały na wyraźne określenie związku jako acetoiny bądź dwuacetylu. Dlatego przeprowadziliśmy porównawczo hydrolizę w środowisku kwaśnym i zasadowym, utlenienie i redukcję eluatu zawierającego nieznany związek *X* i syntetycznej acetoiny. Po przeprowadzeniu reakcji na poszczególnych próbach wykonano reakcję Voges-Proskauera oraz analizę chromatograficzną na związki redukujące. Wyniki prób przedstawione zostały w powyższej tabeli.

Końcowe nasze doświadczenia miały na celu stwierdzenie, czy badany przez nas związek, dodany do pożywki Kosera, jest rozkładany przez pałeczkę okrężnicy. W tym celu do dwóch prób — do jednej z niewielką ilością glukozy i do drugiej, pozbawionej całkowicie glukozy — dodano eluat zawierający związek *X*. Po 24-godzinnej inkubacji przeprowadzono analizę chromatograficzną podłoża obydwóch prób oraz próby kontrolnej. Nieznany związek *X* nie był zużytkowywany w żadnym wypadku (Chromatogram VI).

Wszystkie wyżej wymienione doświadczenia wskazują wyraźnie, że badany związek *X* powstaje w drodze zmienionego wobec inhibitora mechanizmu przemiany glukozy.

DYSKUSJA

Nasze badania nad przemianą węglowodanową u *E. coli,* zachodzącą w warunkach prawidłowego wzrostu i w obecności inhibitorów, opierały się głównie na obserwacjach zmian składu podłoża.

Wprawdzie ten sposób badania metabolizmu bakteryjnego — jak na to wskazywał Schulmeister (1951) — ze względu na wybiórczą przepuszczalność komórek nie odzwierciedla nam dokładnie rzeczywistego przebiegu przemian wewnątrz komórek. Podobne zastrzeżenia wysunęli również Dolin i Gunsalus (1951), którzy w badaniach nad metabolizmem *Str. faecalis* wykazali małą przepuszczalność błon nienaruszonych komórek bakteryjnych dla pyrogronianu. Podkreślić jednak należy, że badania metabolizmu przeprowadzane wyłącznie na preparatach enzymatycznych również nie dają wiernego obrazu rzeczywistości, wskutek wyłączenia niektórych enzymów związanych ze strukturą komórkową.

W naszych doświadczeniach poprzednich, przeprowadzonych w hodowlach *E. coli* w obecności inhibitorów (jodooctanu i oksychinoliny), stwierdziliśmy metodą chromatografii bibułowej kumulację nieznanego związku redukującego.

Obecnie stwierdziliśmy występowanie zarówno inhibitora, jak i nieznanego związku redukującego nie tylko w podłożu, lecz i w acetonowych preparatach komórek *E. coli.*

W próbach kontrolnych bez inhibitora związek redukujący *X* nie występował. Wyniki te przemawiałyby za poglądem, że działanie inhibitora w naszych warunkach doświadczalnych wiąże się nie tylko ze zmianą w przepuszczalności błony komórkowej, ale i ze zmianami w funkcjonowaniu systemów enzymatycznych komórek. Identyfikację nieznanego związku przeprowadziliśmy głównie za pomocą chromatografii bibułowej, stosując charakterystyczne, swoiste testy barwne, jednostkowe albo grupowe.

Ujemne wyniki szeregu barwnych testów, wykonywanych bezpośrednio na bibule, pozwoliły nam wykluczyć wszystkie znane związki występujące w przemianie glukozy, do kwasu pyrogronowego włącznie.

Dodatni wynik reakcji Voges-Proskauera uzyskany na eluatach z bibuły wskazywał na podobieństwo nieznanego związku redukującego do acetoiny. Cechy chromatograficzne plamy (barwa, wolniejsze jej występowanie niż glukozy) wskazywały na ketonową budowę badanego związku. Badania porównawcze sfermentowanej śmietany pozwoliły nam wykryć związek o tym samym R_F i innych cechach chromatograficznych, wspólnych z identyfikowanym związkiem. Jak wiadomo, w sfermentowanej śmietanie gromadzi się acetoina, o czym świadczy dodatni wynik reakcji Voges-Proskauera. Za acetoiną przemawiało jeszcze i to, że granice pH, optymalne dla enzymatycznej syntezy acetoiny (5,0 — 7,0, Green, Westerfield i Wennesland, 1949, Silvermann i Werkman 1941), są również odpowiednie dla syntezy związku *X*. Niestety nie udało się nam oznaczyć R_F syntetycznej acetoiny, otrzymanej z dwuacetylu.

W przemianie węglowodanowej *E. coli* występują jako ostateczne produkty glikolizy kwas mlekowy, octowy, mrówkowy, bursztynowy, etanol, dwutlenek węglowy i wodór. W preparatach enzymatycznych stwierdzono ponadto w obecności fosforanów — acetylofosforan. Acetoiny dotychczas nie wykrywano zarówno w preparatach enzymatycznych, jak i w hodowlach *E. coli*. Natomiast *A. aerogenes*, *A. indologenes* i *Str. diacetilactis*, hodowane na podłożu Clarka, wytwarzają acetoinę. Acetoinę wykrywano również w drożdżach i tkankach zwierzęcych. Dolin i Gunsalus (1951) sugerują istnienie trzech różnych mechanizmów syntezy acetoiny: 1) w systemie enzymatycznym drożdżowym kwas pyrogronowy i aldehyd octowy stanowią równorzędne substraty dla syntezy acetoiny; 2) w systemie swoistym dla tkanek zwierzęcych, badanym głównie na mięśniu sercowym świń, substratami dla syntezy acetoiny są również kwas pyrogronowy i aldehyd octowy; 3) w systemie enzymatycznym bakteryjnym zasadniczą rolę jako substrat dla syntezy acetoiny ma odgrywać kwas pyrogronowy.

Badania dotyczące systemów enzymatycznych, syntetyzujących acetoinę u bakterii, przeprowadzano na preparatach enzymatycznych, otrzymywanych przez dezintegrację komórek różnymi sposobami (Silverman i Werkman, 1941, Dolin i Gunsalus, 1951), i na nieuszkodzonych zawiesinach komórkowych (Happold i Spencer, 1952). W badaniach przeprowadzanych nad *A. aerogenes*, Silverman i Werkman (1941) stwierdzili, że jako podłoże dla syntezy acetoiny służy wyłącznie kwas pyrogronowy. Dodatek aldehydu octowego nie wpływał na syntezę. Odwrotnie, na nieuszkodzonych komórkach autorzy ci stwierdzali zwiększenie ilości acetoiny pod wpływem aldehydu octowego.

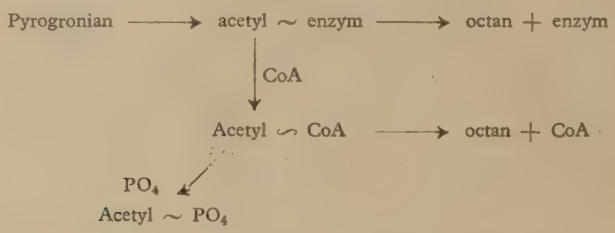
Na dalsze różnice w sposobie syntezy acetoiny przez preparaty enzymatyczne i zawiesiny komórek wskazywały badania Watta i Krampitza (1947). Zaobserwowali oni gromadzenie się w wyciągach enzymatycznych kwasu α-acetomlekowego. Znalazło to potwierdzenie w badaniach Dolina i Gunsalusa. Juni (1952) uznaje kwas α-acetomlekowy za bezpośredniego prekursora w syntezie acetoiny.

Na szczególną uwagę zasługuje stwierdzony przez nas wpływ kwasu pantotenowego i β-alaniny na przebieg przemiany węglowodanowej. Oba te związki przyspieszają zużytkowanie glukozy, a w obecności jodooctanu powodują znacznie silniejszą kumulację nieznanego związku redukującego, zachodzącą kosztem znikającej glukozy.

Udział kwasu pantotenowego w tych przemianach (Dorfman i współpracownicy 1942) wiąże się z oksydacją kwasu pyrogronowego. Pod wpływem pantotenianu zwiększała się znacznie ilość pobieranego przez bakterie tlenu. Novelli i Lipmann (1947) zwrócili uwagę na udział pantotenianu w tworzeniu się koenzymu A.

Nasze badania wskazują wyraźnie, że zakłócenie prawidłowej przemiany węglowodanowej w hodowli *E. coli* w obecności jodooctanu występuje dopiero na odcinku oksydacji kwasu pyrogronowego.

Według Schweeta i Cheslocka (1952) oksydacja kwasu pyrogronowego odbywa się według następującego uproszczonego schematu:



Obecność pośredniego związku acetyl ~ CoA stwierdzili Chantrenne i Lipmann (1950).

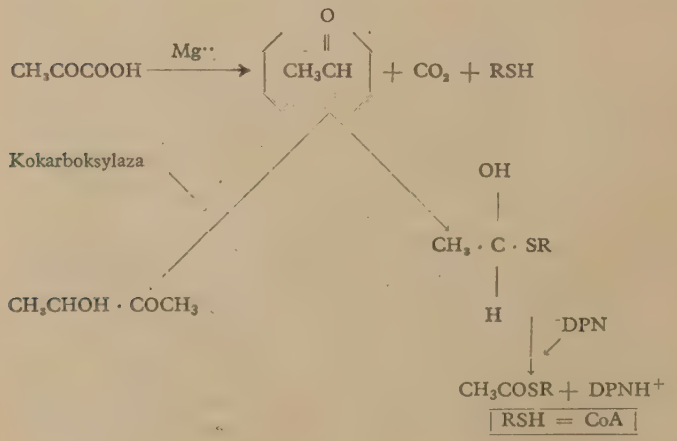
Korkes, Campillo, Gunsalus i Ochoa (1951) wykazali, że acetyl ~ CoA powstaje w wyciągach bakteryjnych z pyrogronianu według następującego schematu:

$$\text{pyrogronian} + \text{DPN} + \text{CoA} \rightarrow \text{acetyl} \sim \text{CoA} + \text{DPNH} + \text{H}^+$$

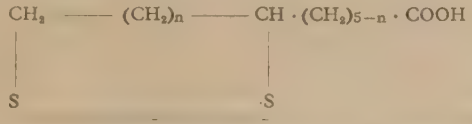
$$\text{Acetyl} \sim \text{CoA} + \text{fosforany} \rightarrow \text{acetylofosforan} + \text{CoA}$$

(DPN = nukleotyd dwufosfopirydynowy).

Według Littlefielda i Sanadiego (1952) w procesach katalizowanych przez oksydazę kwasu pyrogronowego biorą udział aż 4 koenzymy: DPN, CoA, Mg^{++} i kokarboksylaza. Synteza acetoiny miałaby stanowić szlak boczny, zaczynający się od pierwszego produktu pośredniego (aldehyd octowy) oksydacji kwasu pyrogronowego.

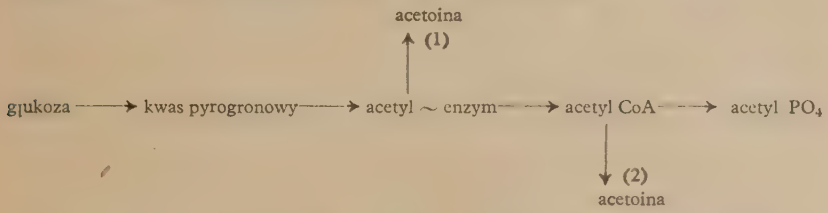


Lester, Reed i De Busk stwierdzili (1952), że jeszcze jeden koenzym bierze udział w oksydacji kwasu pyrogronowego i α-ketoglutarowego. Jest to: „koniugat kwasu lipoikowego", połączenie amidowe tiaminy i kwasu lipoikowego:



Zestawienie podanych schematów z wynikami naszych badań pozwala przypuszczać, że inhibitory (jodooctan, seleniny, 8-oksychinolina) mogą blokować przemianę glukozy *E. coli* na podłożu Kosera w dwu miejscach.

Zablokowaniu może ulec reakcja wiązania acetylu z koenzymem A, albo reakcja przerzucania grupy acetylowej na fosforanową.



Za pierwszym przypuszczeniem przemawia fakt, że grupa SH koenzynu A jest szczególnie wrażliwa na inhibitory grup tiolowych, takie jak jodooctan i seleniny.

Według drugiej alternatywy zablokowaniu ulegałaby faza transacetylacji grupy acetylowej z koenzymu A na resztę fosforanową, przy czym powstaje acetylofosforan. Kumulacja grup acetylowych mogłaby skierować przemianę w kierunku syntezy acetoiny.

Dla poparcia tych przypuszczeń brak jednak jeszcze ostatecznych dowodów doświadczalnych. Są to na razie tylko luźne sugestie autorów, służące jako podstawa dla dalszych badań.

Я. Опенска - Бляут, Т. Борковски и И. Мадецка - Борковцка

ОБНАРУЖЕНИЕ СОЕДИНЕНИЯ С ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИЕЙ ФОГЕС-ПРОСКАУЭРА В ЖИДКОЙ КУЛЬТУРЕ *E. COLI* В ПРИСУТСТВИИ НЕКОТОРЫХ ИНГИБИТОРОВ

Резюме

Авторами были произведены исследования по идентификации неопределенного до сих пор восстанавливающего соединения, обнаруженного при помощи хроматографии на фильтровальной бумаге. Это соединение появляется всегда в культуре *E. coli* на среде Козера в присутствии иодуксусной кислоты ((0,0025 м). Пантотеновая кислота, β-аланин, добавленная к среде значительно усиливает кумуляцию восстанавливающего метаболита. Новое восстанавливающее соединение может появиться в среде лишь тогда, когда ее pH колеблется в пределах от 4 до 7. Если стабилизировать pH среды при помощи углекислого кальция на уровне выше 7, то обсуждаемое соединение „X" никогда не появляется.

Как показали опыты, производимые на ацетоновых препаратах бактерий, соединение „*X*" можно обнаружить не только в среде, но и внутри клеток. Наряду с метаболитом в ацетоновых препаратах было обнаружено также и наличие иодуксусной кислоты. Попытки идентифицировать обсуждаемое соединение „*X*" производились главным образом при помощи хроматографии распределения на бумаге и цветных реакций на элюатах. В результате исследований не обнаружено ни одного из известных промежуточных соединений, имеющихся на схеме Эмбдена — Мейергоффа — Парнаса, а равно ни одного из конечных продуктов обмена веществ у *E. coli*. Положительный результат цветной реакции Фогес-Проскауэра полученный на элюатах, содержащих исследуемое соединение „*X*" в чистом состоянии, давал возможность предполагать, что здесь имеется дело с ацетоином или же с диацетилом. Эти предложения были подтверждены результатами сравнительных исследований кислой сметаны. Хроматографические признаки восстанавливающего соединения выделенного из сметаны, оказались идентичны с такими же признаками неизвестного соединения „*X*", выделенного из культуры *E. coli*. Однако сравнительные исследования над ацетоином и диацетилом показали, что хотя исследуемое соединение „*X*" генетически стоит близко ацетоину, но все таки от него отличается. Синтетический ацетоин в наших хроматографических системах не дает пятна при пробе с азотнокислым серебром. Авторы предполагают, что соединение „*X*", образующееся в культуре *E. coli* в присутствии иодуксусной кислоты и других ингибиторов тиоловых групп, например селенитов, 8-оксихинолина, является соединением сближенным по своей структуре к ацилоинам, не принимающим участия в правильном метаболизме глюкозы у *E. coli*. Это предположение подтверждается экспериментами, при которых соединение „*X*", прибавленное к среде Козера в качестве единственного источника угля, не разлагалось бактериями.

J. Opieńska-Blauth, T. Borkowski i *I. Madecka-Borkowska*

THE SUBSTANCE GIVING POSITIVE VOGES-PROSKAUER TEST IN FLUID CULTURES OF *ESCHERICHIA COLI* IN THE PRESENCE OF SOME ENZYME INHIBITORS

Summary

It was the aim of the present investigations to identify an unknown reducing substance appearing in the cultures of *E. coli* in the presence of iodacetic acid (0,0025 M). The accumulation of this substance was much greater when pantothenic acid or β-alanine was added to the medium. This unknown substance *X* was showed to appear only when pH of the medium was 4,0 — 7,0.

It was showed by properly technique (see „Methods") that the substance *X* was present also inside bacterial cells.

For the identifying of the substance the method of paper-chromatography and some laboratory tests were applied.

It was proved that this substance is not identical with any compound known to occur in glucose metabolism in *E. coli*. The substance *X* eluted from chromatogramms gave positive Voges-Proskauer reaction. This suggests that this substance is related to acetoin. Similar reducing substance was detected in sour cream-milk. The R_F values of reducing substances from sour cream and from *E. coli* culture were identical.

By paper chromatography technique it was shown nevertheless that this reducing substance is not identical with acetoin. Is the authors' opinion that this unknown reducing substance is a precursor of acetoine. The appearance of the substance *X* was shown to be due to the action of many enzyme inhibitors (iodacetic acid, selenite, 8-oxyquinoline) The substance *X* cannot be utilized by *E. coli* as a source of carbon.

LITERATURA

1. Chantrenne H. a. Lipmann F., 1950: Coenzyme A-dependence and acetyl donor function of the pyruvate-formate exchange system. *J. Biol. Chem.*, 187: 757.
2. Dolin M. J. a. Gunsalus J. C., 1951: Pyruvic acid metabolism and acetoin forming system in *Str. faecalis J. Bact.* 62: 199.
3. Dorfman A., Berkman S., Stevart A. a. Koser, 1942: Panthotenic acid in the metabolism of *Proteus Morganni. J. Biol. Chem.*, 144: 393.
4. Green D. E., Westerfield W. W., Wennesland B. a. Conor W. E., 1942: Carboxylases of Animal Tissues, *J. Biol. Chem.*, 145: 69.
5. Happold F. C. a. Spencer C. P., 1952: The bacterial formation of A. M. C. and 2,3-butylenglycol, *Bioch. et Biophys. Acta*, 8: 19.
6. Juni E., 1952; Mechanism of formation of acetoin by bacteria, *J. Biol. Chem.*, 195: 715.
7. Korkes S., del Campillo A., Gunsalus J. C. a. Ochoa S., 1951; *J. Biol. Chem.*, 193: 721, wg. pozycji 20.
8. Lester J., Reed B. G. a. De Busk, 1952; Chemical of an lipoic acid conjugate required for oxidation of pyruvate and ketoglutarate by an *E. coli* mutant. *J. Biol. chem.*, 199: 881.
9. Littlefield J. W. a. Sanadi D. R., 1952: Role of coenzyme A and diphosphopiridine nucleotide in the oxidation of pyruvate. *J. Biol. Chem.*, 199: 65.
10. Novelli D. G. a. Lipmann F., 1947; Bacterial conversation of panthotenic acid in the metabolism of *Proteus vulgaris, Arch. Biochem.*, 14: 23.
11. Opieńska-Blauth J. i Madecka-Borkowska I., 1950; Rozdzielanie cukrowców o zbliżonym współczynniku R_F z mieszanin metodą chromatografii bibułowej, *Acta Physiol. Polon.*, 1:134.
12. Opieńska-Blauth J., Sakławska-Szymonowa O. i Kański M., 1950: Chromatografia bibułowa niektórych kwasów organicznych, *Annales U. M. C. S., Sec. AA*, 5:221.
13. Opieńska-Blauth J., Madecka-Borkowska I. i Borkowski T., 1951; Badania porównawcze nad metabolizmem laktozy, glukozy, galaktozy w płynnych hodowlach pałeczki okrężnicy (*E. coli*). *Acta Physiol. Polon.*, 2:123
14. Opieńska-Blauth J., Madecka-Borkowska I. i Borkowski T., 1952; Wykrywanie fosforowych metabolitów metodą chromatografii bibułowej, *Acta Physiol. Polon.*, 3:315.
15. Opieńska-Blauth J. i Iwanowski H., 1952; Wpływ selenitu na wzrost i przemianę węglowodanową w płynnych hodowlach *E. coli. Acta Microbiol. Polon.*, 1:273.
16. Sakławska-Szymonowa O., 1953; Wpływ miedzi na wzrost i zużytkowanie glukozy w płynnych hodowlach *E. coli. Acta Microbiol. Polon.*, 2:99.
17. Silverman M., a. Werkman C. H., 1941; The formation of acetylmetylcarbinol from pyruvic acid by a bacterial enzyme preparation. *J. Biol. Chem.*, 138:45.

18. Supińska-Jakubowska J., 1952: Wytwarzanie acetoiny przez *Streptococcus diacetilactis, Acta Microbiol. Polon.,* **1**:151.
19. Schulmeister J., 1952: Les mechanismes de la phosphorylation et de l'anhydride carbonique chez les bacteries, *Bull. Soc. Chim. Biol.,* **33**:10.
20. Swet R. S. a. Cheslock K., 1952: Pyruvic oxidase of pigeon breast muscle, *J. Biol. Chem.,* **199**:749.
21. Watt a. Krampitz, 1947; *Fed. Proc. S.;* 801, wg pozycji 2.
22. Westerfield W. W., 1945: A colorimetric determination of blood acetoin. *J. Biol. Chem.,* **161**:435.

Acta Microbiologica Polonica Vol. II, No 4

Wł. Kunicki-Goldfinger, J. Kowalska und *M. Sabbo*

BODENDIPHTEROIDEN. I. MORPHOLOGIE UND WACHSTUMSEIGENSCHAFTEN*

Aus dem Institut für Allgemeine Mikrobiologie der
M. Curie-Sklodowska Universität, Lublin

Eingegangen am 15 Mai 1953

EINLEITUNG

Nach Jensen (1933) entfällt 8 - - 65% der Bodenbakterien auf „nichtkeimende unregulär stäbchenartige, von verschiedenartiger Gestalt von verzweigten Zellen an, welche ab und zu an ein Mycelium erinnern, bis zu kokkoidalen Formen. Die stäbchenförmigen Gestalten sind aus einer oder vielen „individuellen Zellen" (Bisset), „Teilungen" (Hewitt) oder „Gliedern" (Groh) geformt. Sie färben sich grampositiv (in verschiedenem Masse). Sie sind ab und zu sauerfest oder nur schwach und teilweise sauerfest. Ausnahmweise trifft man bewegliche Gestalten an. Sie vermehren sich durch Teilung oder durch Fragmentation... Ihr energetischer Metabolismus schwankt von einem rein oxydativen bis zum teilweise oder ausschliesslich fermentativen .Sie sind mit einem zur Milch- und Propionsäureproduktion biochemischen Mechanismus ausgestaltet" (Jensen 1952).

Nach Conn (Conn 1928, 1948, Conn und Dimmick 1947) bilden diese Mikroorganismen eine eigentliche autochtonische Microflora der Kulturböden. Lochhead (1952) und Hopf (1950) z. B. vertreten eine änliche Einstellung.

Diese so genannte Gruppe von Bodendiphteroiden war Gegenstand von Untersuchungen von Jensen (1934), Conn (1928), Conn und Dimmick (1947), Topping (1937, 1938), Taylor (1938), Lochhead (1937, 1952), Erikson (1949 a, b), Krassilnikow (1934), Ørskov (1938). Bisset (1949), Phillips (1953), Umbreit (1939) und noch andere Forscher.

Trotzdem sind ihre Eigenschaften wie auch ihre systematische Stellung weiterhin ein Diskussions-Gegenstand.

* Praca wykonana w oparciu o dotację Sekcji Naukowej Komisji Popierania Twórczości Naukowej i Artystycznej przy Prezydium Rady Ministrów oraz częściowo — Działu Mikrobiologii I. U. N. G.

Dieses war der Anlass zur vorliegenden Arbeit, deren Ergebnisse wir nachfolgend darstellen.

Als charakteristisches Merkmal für diese Gruppe hielt man die Übergangsfähigkeit von der stäbchenförmigen zur kokkoidalen Gestalt besonders in älteren Kulturen.

Man hat jedoch diejenigen Bedingungen nicht angegeben, welche auf die Geschwindigkeit der Fragmentation einen Einfluss ausüben.

Weiterhin wurde die Frage der Verzweigungsbildung, des Pseudomycelium und des Luftmycelium nicht aufgeklärt. Dieser Vorgang hat aber eine grundlegende Bedeutung für die Festsetzung des Verwandtschaftsverhältnisses zwischen den „Diphteroiden" und der *Nocardia,* beziehungsweise *Proactinomyces.*

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Untersuchungsmaterial:

Man unterzog einer Untersuchung 67 Bodendiphteroidenstämme, die aus unorganischen Stickstoffquellen ihre Nahrung schöpfen und welche losungsweise aus Acker-, Wald- und Gartenboden-proben stammten. Die morphologischen Charakteristik dieser Stämme ist unten angegeben; ihre physiologischen Eigenschaften dagegen wurden in einer folgenden Abhandlung (Kunicki - Goldfinger, Dygdała, Doleżko und Tuszyńska, 1954) beschrieben.

Untersuchungsmethoden:

Man isolierte Mikroorganismen auf Nährboden von Conn (Conn und Dimmick 1947) und auf Nährböden mit Bodenextract, welche von Lochhead und Thexton (1952) vorgeschlagen wurden.

Man untersuchte Morphologie und Wachstumsform der Stämme in einer Kultur in Stubentemperatur auf folgenden Nährböden: a) Glukoseagar (Glukose — 0,1 g, $(NH_4)_2SO_4$ — 0,2 g, Agar — 2,0 g, Leitungswasser — 100 ml); b) Glycerolagar I (Pepton — 1,0 g, NaCl — 0,3 g, Na_2HPO_4 — 0,2 g, Glycerol — 2,0 g, Agar — 2,0 g, destilliertes Wasser — 100 ml) und Glycerolagar II (Pepton — 1,0 g, NaCl — 0,5 g, Glycerol — 0,5 g, Agar — 2,0 g, Fleischextract — 100 ml); c) Gelatine (Gelatine — 25,0 g, Leitungswasser — 100 ml); d) Gelatine mit Glukose (Glukose — 0,1 g, NaCl — 0,5 g, Gelatine — 20,0 g, destilliertes Wasser — 100 ml); e) Peptonwasser (Pepton Witte — 0,5 g, Na_2CO_3 — 0,02 g, KNO_3 — 0,01 g, NaCl — 0,86 g, destilliertes Wasser — 100 ml); f) Nähragar (Pepton Witte — 1,0 g, NaCl — 0,3 g, Na_2HPO_4 — 0,2 g, Agar — 2,0 g, Fleischextract — 100 ml); g) Kartoffel (Nach Omelianski 1940).

Man beobachte das Wachstum 20 Tage lang in einer Inkubation bei 22—24° Temperatur. Man machte Präparate nach 12, 24, 48, 72, 96 und 120 Stunden. Präparate wurden auf Flammen fixiert, und nach der Gram-Methode und mit Methylenblau nach Loeffler gefärbt. Einen Teil der Stämme untersuchte man lebend auf Objektträgeragarkultur.

UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

Wachstumseigenschaften der untersuchten Stämme * sind in der Tabelle I dargestellt.

Auf Agarnährböden wachsen die untersuchten Stämme in regulärer, gewölbter Gestalt in nicht grossen Kolonien, wobei nach einigen Tagen ihr Durchmesser 1,5 mm nicht überschreitet. Diese Kolonien haben eine teigartige oder paste-ähnliche Konsistenz, wobei sie ab und zu sehr stark am Boden haften (Gruppe IS und IIK). Manchmal sind die Kolonien rauh und matt (Gruppe VS u. VIS) oder schleimig (Gruppe IK). Die Kolonien sind meistenteils pigmentiert — vorwiegend gelb (Gruppe IK, IIK, IIIK, IVK, VK, VIIS — zusammen 33 Stämme), seltener grünlich (Gruppe: IVS, VS u. VIS), oder rosarot (Gruppe: VIIIS).

Das Pigment kommt öfters erst nach einigen Tagen der Kultur zum Vorschein.

Nur bei Gruppe IVS diffundiert der Farbstoff in dem Nährboden.

Die grösste Farbstoffproduktion bemerkte man auf Kartoffeln, die kleinste auf Agarnährboden von Conn.

Ausser Gruppe IXS u. IK, welche einen Zusatz an Hefeextrakt brauchen, wachsen alle anderen Stämme gut auf Agarsubstrat mit Mineralsalzen und Glukose.

Auf flüssigen Nährböden ist der Anwuchs schwächer. Zuerst erscheint eine schwache Trübung und erst nach 2 — 10 Tagen tritt ein lockerer oder kleinkörniger Bodensatz (Gruppe IS, VS, VIIIS, IXS, IIIK), ein gefärbter Ring, welcher am Glase an der Berührungstelle der Flüssigkeitsmeniske mit der Luft haftet (Gruppe IIS, IK, IIK, IVK, VK), oder auch ein gleichförmiges Häutchen, gewöhnlich brüchig und dünn (Gruppe IIIS, IVS und VS), zum Vorschein. Nur bei dem Stamme 26a erreicht das sich nach drei Tagen bildende Häutchen eine beträchtliche Stärke und Zusammenhalt.

Auf Kartoffeln wachsen alle Stämme gut, ausgenommen die Gruppen IIS, VIS und IXS.

Die Veränderlichkeit des Anwuchstypus ist in Gegenteil zu den Mitteilungen vieler Forscher verhältnismässig klein. Wir berücksichtigen hier natürlich keine Veränderungen der Wachstumsform, welche von der Art des Nährbodens abhängig sind und welche (Tabelle I) auch nicht sehr gross sind.

Man beobachtete jedoch einen Übergang der Formen von rauhen, flachen und matten Kolonien in die Gestalt von glatten, regulären, gewölbten und

* In Folge der Verwirrung, welche in der Bodendiphteroidenklassifikation herrscht, wurden die von uns isolierten Stämme und Gruppen mit Ziffern benannt. Bei Berücksichtigung ihrer physiologischen Eigenschaften dürfte man auf folgende Weise ihr Verhältniss zu den von anderen Forschern beschriebenen Arten und Gattungen angeben: IK — *Mycob. luteum* Krassilnikow 1941, IIK — *Arthrobacter,* Conn 1928, IIIK — Gruppe 2b, Topping 1937, IVK — Gruppe 2a — Topping 1937, VK — *Arthrobacter helvolum,* Zimmermann u. Conn, IS und IIS — *Mycob. album,* Kras. 1941, IIIS — *Mycob. bifidum,* Kras. 1941, IVS — *Mycob. filamentosum,* Kras. 1941, VS — *Mycob. citreum,* Kras. 1941, VIS — *Mycob. citreum vulgare,* Kras. 1941, VIIS — *Mycob. flavum aethanicum,* Kras. 1941, VIIIS — *Mycob. rubrum,* Kras. 1941, IXS — unbekannt.

feuchten. Eine solche Dissoziation kam bei dem Stamme 17d nach sieben jede Woche vorgenommen Überimpfungen auf Nähragar vor und etwas früher auf Glycerolagar.

In Gruppen IK und IIK gingen Bakterien nach einigen Überimpfungen aus der glatten Form in eine schleimige Gestalt über und zwar in Kolonien mit einer dehnlichen und klebrigen Konsistenz. In dieser Gestalt war ihr Anwachsen beträchtlich langsamer. Trotz vieler Proben erwies sich dieser Prozess im Endergebnis als unabwendbar und er führte einen Schwund der Stämme von Gruppe IK herbei.

Die untersuchten Stämme färben sich gut mit Anilinfarbstoffen. Mit Methylenblau nach Loeffler und mit der Gramschen Methode färben sie sich ungleichmässig. In gramnegativen Zellen sind grampositive Körnigungen sichtbar.

Während seines ganzen Entwicklungszyklus ist der überwiegende Teil der untersuchten Stämme deutlich grampositiv. Einige färben sich in gewissen Entwicklungsperioden und auf gewissen Nährböden gramnegativ.

So sind also die Stämme des Gruppe IK (nr IK — 9K) nach 24-stündiger Bebrütung auf Agarnährboden von Conn gramnegativ; nur ab und zu trifft man Zellen mit grampositiven Körnchen an. Nach 48-stündiger Bebrütung werden Stämme nr 3 und 5 und nach 96 Stunden sogar Stämme 1 und 6 grampositiv. Auf allen anderen Nährböden sind Stämme dieser Gruppe stets grampositiv.

Stämme der Gruppe IIK wachsen auf Agar von Conn wie auch auf Glycerolagar in gramnegativen Gestalten. Erst nach einer 96-stündigen Bebrütung auf Agar von Conn erscheinen grampositive Formen. Der Glycerolinhalt im Nährboden beeinflusst die Färblichkeit in der Gruppe VK auf ähnliche Weise. Nach der 48-stündigen Bebrütung auf glycerinierten Nährböden färben sich alle Zellen gramnegativ und erst nach 96 Stunden gehen sie in grampositive Formen über. Einige von ihnen, zum Beispiel die Stämme nr 21, 29 und 30, verblieben während ihrer Kulturdauer auf Glycerolagar gramnegativ.

Keiner von den untersuchten Stämmen war ohne Rücksicht auf das Alter der Kultur und die Art des Nährbodens sauerfest. Ein Teil der Stämme (nr 9K, 11K, 15K, 19K, 30K, 17aS, 17dS, 18aS, 20aS, 20cS und 27S) war alkoholfest so auf Agarkultur von Conn wie auch auf Glycerolagarkultur. Die Stämme 10K und 22K waren nur in der Kultur auf Glycerolnährboden alkoholfest.

Gestaltenveränderungen, aber vor allem der Übergang von Stäbchen in die Gestalt von Kokken, waren ein charakteristisches Merkmal aller untersuchten Mikroorganismen.

Die Erscheinungsperiode von Kokken war verschieden und war von der Art des Nährbodens abhängig (Tabelle II). Am schnellsten zeigten sich Kokken auf flüssigen Nährböden und auf Kartoffeln, viel später auf Glycerolagar. Nach 4- 5-tägiger Bebrütung tritt der überwiegende Teil der beschriebenen Stämme ausschliesslich im Gestalt von unregulären Kokken auf. Sogar Gruppe IIIK, welche auf dem überwiegenden Teile der angewandten Nährböden fadenartige und verzweigte Formen bildet, formt in entsprechenden Verhältnissen (Kultur auf Kartoffeln) nach 96-stündiger Bebrütung ungefähr 25% von Kokkenformen.

Tabelle I

Wachstumseigenschaften von Bodendiphtheroiden in Abhängigkeit vom Nährboden
Свойства роста почвенных дифтероидов в зависимости от субстрата
Własności wzrostowe dyfteroidów glebowych w zależności od podłoża

Gruppe	Stämme	Wachstumsform				
		Agar von Conn und Nähragar	Glycerolagar	Gelatine	Peptonwasser und Bouillon	Kartoffel
IS	18b, 18c, 19a, 19b, 20a, 24b, 24c, 25b, 25d, 25e, 26b, 26c.	Runde Kolonien, gewölbt, kompakt, stark an den Nährboden geheftet, weisslich, auf A. C.-durchsichtig. In älteren Kulturen etwas schleimig. ⌀ - nach 3 Tagen 0,5 - 1,5 mm	Wachstumsform wie auf Nähragar	Wachstumsform ähnlich wie auf Nähragar. Nach 24 Stunden Verflüssigung	Gleichförmige Trübung. Nach 5-6 Tagen lockerig, nicht besonders üppiger Bodensatz	Gute Wachstum Pigment weiss
IIS	20b	Wachstum ähnlich wie bei Gruppe IS. Die Kolonien verschleimen nicht. ⌀ - bis 1 mm	Wachstum wie auf Nähragar, aber langsamer	Wachstum schwächer als bei Nähragar, keine Verflüssigung	Gleichförmige Trübung Nach 5 Tagen weisslicher Ring an der Berührungstelle der Meniske mit dem Glase	Schwache Wachstum
IIIS	18a	Weisse Kolonien, schwachgewölbt, mit wellenförmigem Rande, schleimig. In älteren Kolonien — zerflissend. ⌀ - bis 2 mm	Wachstum wie auf Nähragar, aber schneller und mehr üppig	Die Kolonien sind mit denen auf Nähragar ähnlich. Anwuchs mehr üppig	Gleichförmiger Bodensatz, kompakt und kleinkörnig. Nach 3 Tagen bildet sich ein Häutchen	Kleine, blitzende kremrosa Kolonien. Kartoffel wird braun
IVS	27, 28, 29	Kolonien und Anwuchstypus sind mit Wachstumsform von Gruppe IIIS ähnlich. Grün-gelbliches Pigment diffundiert zum Boden. Pigment erscheint nach 2-tägiger Kultur		Wachstumsform wie bei Nähragar. Nach 24 Stunden Verflüssigung	Gleichförmige Trübung. Nach 5-7 Tagen entsteht ein zartes Häutchen	Braune Kolonien bis 1,5 mm Durchmesser. Kart. wird braun
VS	17d	Flache, rauhe und matte Kolonien mit unregulärem Rande, sind den Flechten ähnlich. Um die Kolonie rundherum eine strahlenförmig anliegende Zone von flachem Anwuchs. Pigment gelb. ⌀ - 0,5-1,0 mm. Auf A. C. kleinere und mehr blasse Kolonien. Nach 7 allwöchentlichen Durchimpfungen—reguläre, runde, glatte Kolonien. ⌀ - bis 1,5	Wachstumsform ähnlich wie auf Nähragar, aber etwas üppiger. Glatte Formen erscheinen früher	Wachstumsform ähnlich demjenigen auf Nähragar. Nach 3 Tagen Verflüssigung	Gleichförmige Trübung und lockerer Bodensatz.	Schwache Wachstum. Pigment gelblich
VIS	20c	Gewölbte, reguläre, glatte und gelbe Kolonien. ⌀ - bis 2 mm. Auf A. C. blassgelb; ⌀ - bis 1 mm. Allmählicher Anwuchs	Wachstum ähnlich wie auf Nähragar, aber bedeutend schneller und üppiger	Wachstumsfor wie auf Nähragar, aber üppiger. Nach 7 Tagen schwache Verflüssigung	Gleichförmige Trübung und schwacher Bodensatz. Nach 3 Tagen eine düne Haut	Sehr üppige Wachstum. Pigment stark gelb
VIIS	26a	Wachstumsform ähnlich wie bei Stamm 20c. Kolonien etwas kleiner - 0,5 - 1,4 mm		Wachstumsform wie auf Nähragar. Nach 7 Tagen schwache Verflüssigung	Gleichförmige schwache Trübung. Nach 3 Tagen bis 2 mm starke Haut, nachher auf den Boden fallend	Üppige Wachstum. Pigment gelb.
VIIIS	17a, 23	Reguläre, gewölbte, glatte Kolonien auf A. C. blassrosa, auf Nähragar intensiv rosa. ⌀ - 0,5-1,0 mm. Auf A. C.-0,5 mm. Schwacher Anwuchs	Wachstum änlich wie auf Nähragar, aber üppiger	Wachstumsform wie auf Nähragar. Keine Verflüssigung	Gleichförmige Trübung und Bodensatz. Nach 7 Tagen wird die Flüssigkeit klar	Üppige Wachstum. Pigment rot
IXS	11b, 17b, 22	Kolonien regulär, gewölbt, glatt, paste-förmig; farblos. ⌀ - 0,5-1,5 mm. Hefeextrakt stimuliert deutlich den Anwuchs	Wachstumsform ähnlich demjenigen auf Nähragar. Stamm 11b wächs besser, die übrigen genau so schwach wie auf Nähragar	Schwacher Anwuchs. ähnlich wie auf Nähragar. 11b keine Verflüssigung. 17b u. 22 - schwache Verflüssigung nach 48 Stunden	Gleichförmige Trübung. Bei Stamm 17b ausser Trübung sehr spärlicher Bodensatz	Stämme 17b u. 22 wachsen garnicht. 11b-Anwuchs sehr spärlich
IK	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	Kolonien regulär, glatt, schwach gewölbt, etwas schleimig. Nach 4 Tagen erscheint gelbes Pigment. ⌀ - 0,5-1,5 mm. Nach einigen Überimpfungen verschleimen die Kolonien stark	Wachstumsform wie auf Nähragar. Verschleimung entsteht etwas früher als auf Nähragar	Wachstumsform wie auf Nähragar. Keine Verflüssigung	Schwache Trübung. Nach 2 Tagen erscheint ein gelber Ring und spärlicher, feinkörniger, gelber Bodensatz	Üppige schleimige Wachstum. Pigment gelb
IIK	17k, 18k, 27k, 28k	Kolonien trocken, flach, gewölbter Rand, scharf abgeschnitten, kompakt, wachsen in den Nährboden ein. Nach 4 Tagen gelbes Pigment. ⌀ - bis 1,5 mm. Nach einigen Überimpfungen verschleimen die Kolonien	Wachstum wie auf Nähragar, aber etwas üppiger	Wachstumsform wie auf Nähragar. Keine Verflüssigung	Nach 5 Tagen schwache Trübung. Nach 24 Tagen starke Trübung, feinkörniger Bodensatz und gelber Ring	Trockene, nicht üppige, gelbe Wachstumsform
IIIK	22K	Kolonien rund, gewölbt und matt. Anfänglich weiss, nach 4 Tagen apfelsinenfleischfärbig, sind mit einer Zone von flachen, strahlenartigen Anwuchs umgeben. Ältere Kolonien sind körnig	Mehr üppiger und schnellerer Anwuchs als auf Nähragar. Pigment erscheint nach 48 Stunden	Wachstumsform ähnlich wie auf Nähragar. Keine Verflüssigung	Schwache Trübung. Nach 24 Tagen gelber, körniger Bodensatz	Üppiger Wachstum. Pigment apfelsinenfärbig
IVK	10k, 12k, 13k, 14k, 16k, 19k, 20k	Kolonien winzig, regulär gewölbt, blitzend, glatt und weich. ⌀ - 0,4 - 1,0 mm. Nach 24 Stunden - durchsichtig, nach 48 - gelb	Wachstumsform ähnlich wie auf Nähragar. Körnige Kolonien	Wachstumsform ähnlich wie auf Nähragar. Keine Verflüssigung. ⌀ - 0,5 - 1,0 mm	Schwache Trübung. Nach 24 Tagen spärlicher, gelber Bodensatz und ein schwacher Ring	Üppiger, etwas schleimiger Anwuchs. Pigment gelb
VK	11k, 15k, 21k, 23k, 24k, 25k, 26k, 29k, 30k	Kolonien sehr winzig, regulär, gewölbt, blitzend, weich. ⌀ - 0,5 mm. Nach 48 Stunden krem, nachher zitronengelbliches Pigment	Wachstumsform wie auf Nähragar	Wachstumsform ähnlich wie auf Nähragar. Keine Verflüssigung. Kolonien wie in Gruppe IVk	Anwuchs ähnlich wie in Gruppe IVk	Wachstumsform ähnlich wie in Gruppe IVk

TABELLE II

Die morphologische Veränderlichkeit der Bodendiphteroiden in Abhängigkeit von Alter der Kultur

Морфологическая изменчивость почвенных дифтероидов в зависимости от возраста культуры и рода субстрата

Zmienność morfologiczna dyfteroidów glebowych w zależności od wieku hodowli

Gruppe	Mittlere Zellenausmasse (in μ)		Stundendauer der Bebrütung nach welcher Kokken erscheinen				Maximaler Kokkenprozents		Verzweigungen
	In 12-stündiger Kultur	In 5-tägiger Kultur	A.O. i A.C.	A.GL.	B, WP	Z	auf Nährboden	Nach Stunden	
IS, IIS	0,5×1,4—2,2	0,5—0,6×0,6—0,7	48	48	48	48	AGL—ca 70%	120	Fehlen
IIIS	0,7×2,5—7,0	0,7×1,5—2,0	48	48	48	14	A.C.,Z, WP,AGL — ca 100%	120	Anwesend
IVS, VS	0,4—0,5×1,0—3,0	0,5×1,0—2,0	48	120	48	48	AC.WP.Z.—ca 70%	120	Fehlen
VIS, VIIS	0,7×4,0	0,7×2,0	48	120	48	48	Z,WP,AGL—ca 20%	120	Fehlen
VIIIS	0,5—0,7×1,4—3,0	0,4—0,5×1,0	—	120	120	120	AC,WP,Z,AGL. ca 70%	120	Fehlen
IXS, 11b	0,6×1,0—2,0	0,6×1,0—2,0	120	120	120	120	AC,WP,Z,AGL.—ca 10%	120	Fehlen
IXS, 17b	0,5×0,9—2,0	0,6—1,0—2,0	24	24	12	24	AC,WP,Z—ca 100%	120	Fehlen
IXS, 22	0,4×1,0—2,0	0,4×0,8—1,2	24	24	24	24	AC,WP,Z—ca 100%	120	Fehlen
IK	0,5—0,6×0,7—2,5	0,5×0,7—2.0	—	—	96	96	WP—ca 50%	96	Anwesend
IIK	0,8×1,0—1,5	0,5×1,0—1,5	48	—	48	48	AC,WP—ca 75%	96	Fehlen
IIIK	0,4×1,5—10,0	0,4×0,5und Fäden	—	—	—	96	Z—ca 25%	96	Anwesend
IVK	0,5—0,7×0,7—2,5	0,5—0,7×0,7—1,0 bis 4,0 auf A,C	24	—	24	24	Z,AC—ca 100%	96	Fehlen
VK	0,4×1,5—3,0	0,7×0,7—0,9	48	96	48	48	Z,AC,WP—ca 100%	96	Fehlen

A.O. — Nähragar
A.C. — Agarnährboden nach Conn
A.GL — Glycerolagar
B — Bouillon
WP — Peptonwasser
Z — Kartoffel

Deutliche, zweifellose Verzweigungen hatte man nur bei Gruppen IK, IIIK und IIIS beobachtet. Stämme dieser Gruppen wuchsen in Gestalt von ziemlich langen Fäden, welche in kürzere Fragmente zerfielen.

Bei anderen Stämmen erwiesen sich die „Verzweigungsbilder", welche in fixierten und gefärbten Präparaten sichtbar waren, bei Beobachtungen von ungefärbten, lebenden Präparaten als künstliche Gebilde.

Eine Bildung von Luftmycelium hatte man bei keinen Stamme beobachten können.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die Pseudomyceliumbildung wird als wesentliches Merkmal gehalten, welches die Trennung des *Mycobacterium* und *Corynebacterium* von der *Nocardia*-art (Bergey, 1948) ermöglicht.

Es fehlt jedoch, wie es schon Umbreit (1939) richtig bemerkt hat, zwischen diesen beiden Gruppen eine scharfe Grenze. Krassilnikow (1941) hält zwar Verzweigungen als ein diagnostisches Merkmal des *Mycobacterium*, welches nach der Klassifizierung von Krassilnikow auch Corynebakterien miteinschliesst; die Mehrzahl der Forscher dagegen hält jedoch Verzweigungen für eine Ausnahme oder sogar für eine teratologische Erscheinung. Sich werzweigende Corynebakterien sind z. B. von Taylor und Lochhead (1937), Taylor (1938), Jensen (1934) und Burčik (1950) beschrieben worden.

Unsere Stämme aus den Gruppen IK, IIIK und IIIS, welche verzweigte Fäden nur auf einigen Nährböden bildeten, erinnerten in dieser Hinsicht an *Proactinomyces opacus* den Dooren de Jong u. *Pr. salmonicolor* den Doorende Jong, welche ven Erikson (1949) beschrieben wurden, an Stamm „*74*" von Lieske (1921) und an Gruppe IIb von Ørskov (1938).

Das Fehlen irgendwelcher Spuren von Luftmycelium und anderer morphologischen und cytologischen Merkmale veranlassten uns sie zur Corynebakteriengruppe anzurechnen. Ähnlich hatte Phillips (1953) die von ihm 26 beschriebene sich verzweigende Stämme zur *Arthrobacter* gazählt. Das Problem der Systematik dieser Gruppe wird in einer der folgenden Publikationen von Kunicki-Goldfinger besprochen.

Die Pseudomyceliumbildung, die ab und zu in Abhängigkeit von der Art des Nährbodens und anderer Milieubedingungen vorkommt, ist eine gemeinsame Eigenschaft der Mikroorganismen sowohl der *Proactinomyces* wie auch der Diphteroiden. Ein so veränderliches und allgemein auftretendes Merkmal dürfte, unserer Meinung nach, nicht als grundsätzliches Differentialmerkmal zwischen den erwähnten, verwandten Gruppen angenommen werden.

Die Körperfragmentation dagegen scheint eine wesentliche Eigenschaft zu sein, welche zur Entstehung von Kokkenformen führt. Dieses Merkmal tritt, zwar in verschiedenem Grade, bei allen unseren Stämmen auf. Die Ergebnisse der gegenwärtigen Publikation sind, im Grunde genommen, mit denjenigen Resultaten, welche Lochhead (1937) erhielt, mehr verwand als mit der Ansicht von Conn (1948), welcher den Übergang

in kokkoidale Formen als diagnostisches Merkmal der *Arthrobacter* hält.

Die Mehrzahl unserer Stämme weicht sowohl in Folge der morphologischen wie auch physiologischen Eigenschaften (Kunicki-Goldfinger, Dygdała, Doleżko und Tuszyńska 1954) wesentlich von der *Arthrobacter* gattung von Conn ab. Trotzdem ist bei ihnen die Bildung der Kokkenformen allgemein. Es kommt schliesslich so vor, dass dieses eingemeinsames Merkmal aller Corynebakterien und einiger verwandten Gruppen ist (Parasitencorynebakterien — Groh 1938, Groh und Megay 1938, Mycobakterien — Bisset 1949, Krassilnikow 1934).

Kokken entstehen durch Fragmentation des Bakterienkörpers (Krassilnikow 1934, Bisset und Moore 1949, Kunicki-Goldfinger, Stachal und Urbańska 1953), wobei das von Krassilnikow beschriebene „Abtrennen" der Kokken am Stäbchenende nichts anderes ist als eine gewisse Form von teilweiser Fragmentation.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen von Erikson (1949a) haben wir nicht festgestellen, ob Kokken als solche sich vermehren. Auf einen neuen Nährböden übergeimpft gehen sie immer in die Gestalt von Stäbchen über, was durch Beobachtungen von lebenden Bakterien festgestellt wurde. Das zahlenmässige Vergrössern von Bakterien auf einer alten Kultur, in welcher nur noch Kokken auftreten, kann nicht das Ergebnis einer Vermehrung sondern vielmehr eines Verfalls von Agregaten sein, welche aus einige Kokken bestehen.

Der Übergang in eine Kokkengestalt ist, wie diese aus Tabelle II hervorgeht, in grossen Masse von Milieu abhängig. Von der Art der Faktoren, welche auf die Schnelligkeit dieses Prozesses einen Einfluss haben, ist auf Grund des bisher eingesammelten Materials schwer zu urteilen.

Wie es Voss (1952) bewiesen hat, kann derselbe Faktor (grössere Konzentration NaCl, KCl, LiCl) bei gewissen Arten zur Fragmentation führen (z. B. *Mycob. phlei)*, bei anderen aber zur Verlängerung des Körpers in Stäbchenform (z. B. *Streptococcus*) oder zur Fadenbildung (*Corynebact. segmentosum)*. Versuche einer Festlegung irgendeiner Regelmässigkeit dieses Prozesses würden folgedessen unzweifelhaft verfrüht sein.

Das Verhältniss der Kokkenformen zu den Microcysten wird in der folgenden Publikation (Kunicki-Goldfinger, Stachal und Urbańska 1953) besprochen werden.

Die Veränderlichkeit der untersuchten Bakterien ist in Laboratoriumsbedingungen, wie es scheint, nicht viel grösser als bei anderen Gruppen. Im Laufe von 2 — 3-jährigen Beobachtungen vieler Stämme hatte man keine Veränderungen von wichtigeren Eigenschaften ausser den beschriebenen Dissoziationen R → S und S → M festgestellt. Diese Dissoziationen muss man für eine Mikroorganismenreaktion auf anormale Bedingungen halten, welche für sie in der Reinkultur auf Laboratoriumsnährböden geschaffen werden.

Den Verfassern fällt es schwer sich mit der Ansicht von Conn und Dimmick (1947) abzufinden, dass Formen, welche durch sie zu *Arthrobacter* gerechnet werden, sich im Stäbchenstadium in der Regel gramnegativ färbten. Das Verhalten dieser Bakterien bei der Färbungsmethode von Gram ist vor allen vom Milieu abhängig. Es ist dabei bemerkenswert, dass

das Glycerol, das Wachstum anregend, die Entwicklung von gramnegativen Formen begünstigt. Wir bemerken hier eine gewisse Korrelation zwischen der Hemmung von Umgestaltungen der Stäbchen in Kokken durch Glycerol und einer Hemmung der Umgestaltung in grampositive Formen. Aus diesem Grunde könnte man vermuten, dass die Fragmentation sich dann erst vollzieht, wenn der Rybozonukleinsaüregehalt in den Zellen ein gewisses, bestimmtes Niveau erreicht.

Wir sind der Meinung, dass Wachstumsformmerkmale und der charakteristische Entwicklungszyklus in Verbindung mit gewissen cytologischen und physiologischen Eigenschaften uns dazu berechtigen, diese Gruppe als *Corynebacterium sensu lato* (J e n s e n 1952) abzusondern. Dagegen dürfte wohl die Ausscheidung von *Arthrobacter, Jensenia* u. s. w. als besondere Gattungen noch verfrüht sein.

Wł. Kunicki-Goldfinger, J. Kowalska i *M. Sabbo*

DYFTEROIDY GLEBOWE
I. MORFOLOGIA I WŁASNOŚCI WZROSTOWE

Streszczenie

Badaniu poddano 67 szczepów dyfteroidów glebowych, wyosobnionych z miejscowych gleb. Przebadano przemiany morfologiczne i barwliwość szczepów w zależności od wieku hodowli i rodzaju podłoża. Tylko u części szczepów stwierdzono tworzenie prawdziwych rozgałęzień. Żaden z badanych szczepów nie wytwarzał grzybni powietrznej. Wspólną cechą wszystkich szczepów była zdolność wytwarzania form ziarenkowatych w miarę starzenia się hodowli. Szybkość i nasilenie fragmentacji były różne u różnych szczepów, przy czym wyraźnie uwidoczniała się zależność tego procesu od rodzaju podłoża.

Również zachowanie się bakterii przy barwieniu metodą Grama zależne było w dużym stopniu od wieku hodowli i od rodzaju podłoża. Gramdodatniość silniej zaznaczała się w starszych hodowlach i na pożywkach nie zawierających glicerolu. Badane szczepy nie wykazywały cechy kwasoodporności, natomiast niektóre z nich były alkoholoodporne. Autorzy przedyskutowali znaczenie tych cech dla taksonomii badanej grupy.

В. Куницки-Гольдфингер, Я. Ковальска и М. Саббо

ПОЧВЕННЫЕ ДИФТЕРОИДЫ. I. МОРФОЛОГИЯ И СВОЙСТВА РОСТА

Резюме

Исследовано 67 штаммов почвенных дифтероидов, выделенных из местных почв. Изучены морфологические изменения а также способность штаммов окрашиваться в зависимости от возраста культур и рода среды. Лишь только у части штаммов установлено образование настоящих разветвлений. Ни один из исследуемых штаммов не образовывал воздушного мицелия. Общим свойством всех штаммов является способность образовывания зернистых форм по мере старения культуры.

Скорость и интенсивность фрагментации оказались разными у разных штаммов, причем совсем ясно наблюдалась зависимость этого процесса от рода среды.

Поведение бактерий при окрашивании их по методу Грама тоже зависело в большой степени от возраста культур и от рода субстрата. Грамположительность выступала гораздо резче у старших культур и на средах не содержащих глицерола. Исследуемые штаммы бактерий не проявляли кислотоустойчивости, но некоторые среди них оказались алкоголоустойчивыми.

Наконец авторы подвергли тщательному обсуждению значение всех этих признаков для таксономии исследуемой группы.

LITERATUR

1. Bisset K. A., 1949: Observation upon the cytology of Corynebacteria and Mycobacteria., *J. gen. Microbiol.*, 3:93.
2. Bisset K. A. a. Moore F. W., 1949: The relationship of certain branched bacterial genera. *J. gen. Microbiol.*, 3:387.
3. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1948, 6th ed. The Williams a. Wilkins Co, Baltimore.
4. Conn H. J., 1928: A type of bacteria abundant in productive soils, but apparently lacking in certain soils of low productivity. *N. Y. St. Agr. Exp. Sta. Bull.* Nr 138.
5. Conn H. J. a. Dimmick J., 1947: Soil bacteria similar in morphology to Myco- and Corynebacteria. *J. Bacter.*, 54:291.
6. Conn H. J., 1948: The most abundant groups of bacteria in soil. *Bact Rev.*, 12:257.
7. Burčik E., 1950: Eine Kritik der Symbiosetheorie von H. Schanderl. *Arch. Mikrobiol.*, 14:309.
8. Erikson D., 1949 a: Differentiation of the vegetative and sporogenous phases of the Actinomycetes. 4. The partially acid-fast *Proactinomycetes*. *J. gen. Microbiol.*, 3:361.
9. Erikson D., 1949 b: The morphology, cytology and taxonomy of the *Actinomycetes*. *Ann. Rev. Microbiol.*, 3:23.
10. Gróh E., 1938: Über die Stabilität des Entwicklungsganges bei Diphteriebazillen Teil I. *Zbl. Bakter I. Orig.*, 141.
11. Gróh E. u. Mégay K., 1938: Über die Stabilität... Teil II. *Zbl. Bakter., I. Orig.*, 143:119.
12. Hopf M., 1950: Untersuchungen über die natürliche Mikroflora des Bodens. *Arch. Mikrobiol.*, 14:661.
13. Jensen H. L., 1933: The identity of certain species of *Mycobacterium* and *Proactinomyces*. *Proc. Linnean Soc. N. S. Wales*, 57:364.
14. Jensen H. L., 1934: Corynebacteria as an important group of soil microorganisms. *Proc. Linnean Soc. N. S. Wales*, 58:181.
15. Jensen H. L., 1952: The Coryneform bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.*, 6:76.
16. Krassilnikow N. A., 1934: Die Entwicklungsgeschichte der Bodenmykobakterien. *Zbl. Bakter., II*, 90:428.
17. Kunicki-Goldfinger Wł., Stachal i Urbańska M., 1953: Bodendiphteroiden. II. Cytologie. *Acta Microbiol. Polon.*, 2:287.
18. Kunicki-Goldfinger Wł., Dygdała K., Doleżko D. und Tuszyńska B., 1954: Bodendiphteroiden... III. Physiologie. *Acta Microbiol. Polon.* — oddane do druku.
19. Kunicki-Goldfinger Wł., 1954: Bodendiphteroiden. IV. Die Systematik. *Acta Microbiol. Polon.* — oddane do druku.
20. Lieske R., 1921: Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. Gebr. Borntaeger, Leipzig.

21. Lochhead A. G., 1937: Progress Report of the Dominion Agricultural Bacteriologist for the year 1937, Ottawa, 1939.
22. Lochhead A. G., 1952: Soil Microbiology. *Ann. Rev. Microbiol.*, **6**:185.
23. Lochhead A. G. a. Thexton R. H., 1952: Qualitative studies of soil microorganisms, p. X., *J. Bacter.*, **63**:219.
24. Omelianski W. L., 1940: Prakticzeskoje rukowodstwo po mikrobiologii. AN SSSR, Moskwa.
25. Ørskov J., 1938: Untersuchungen über Strahlenpilze reingezüchtet aus dänischen Erdproben. *Zbl. Bakter., II*, **98**:344, 355.
26. Phillips H. C., 1953: Characterization of the soil Globiformae bacteria. *Iowa St. College J. of Sci.*, **27**:240.
27. Taylor C. B., 1938: Further studies of *Bact. globiformae* and the incidence of this type of organism in Canadian soil. *Soil Sci.*, **46**:307.
28. Taylor C. B. a. Lochhead A. G., 1937, Canad. J. Res. (C), **15**:340 wg poz. 21.
29. Topping L. E., 1937: The predominant microorganisms in soils. I. u. II., *Zbl Bakter., II*, **97**:291, i 1938, **98**:193.
30. Umbreit W. W., 1939: Studies on the Proactinomyces., *J. Bacter.*, **38**:73.
31. Voss E., 1952: Die Wirkung überoptimaler Konzentrationen einiger Neutralsalze auf Kokkoide Bakterien. *Arch. Mikrobiol.*, **18**:101.

Die Übersetzung in deutsche Sprache führte Herr Stanisław Perliński aus, wofür die Autoren ihm herzlichen Dank aussagen.

Wł. Kunicki-Goldfinger, Wł. Stachal und *M. Urbańska*

BODENDIPHTEROIDEN. II. CYTOLOGIE *

Aus dem Institut für Allgemeine Mikrobiologie der M. Curie-Skłodowska Universität, Lublin

Eingegangen am 15 Mai 1953

Die Cytologie der saprophytischen Bodencorynebakterien war ein Gegenstand von nur wenigen Untersuchungen. Hier müssen in erster Linie die Arbeiten von Bisset (1949), Bisset und Moore (1949), Morris (1951) und Hewitt (1951) erwähnt werden.

Die mit dieser Gruppe verwandte Parasiten-Corynebakterien und Mycobakterien wurden in der letzten Zeit in dieser Hinsicht viel besser geprüft (Pieszkow und Niechotienowa 1948, Knaysi 1952, Mudd und Mitarbeiter 1951).

Eine besonders grosse Bedeutung für die Systematik bei diese Mikroorganismen hat das Problem der Mono- beziehungsweise Poly-Kernigkeit. Auffassungen über diese Frage sind nicht übereinstimmend [z. B. Untersuchungsergebnisse von Bisset (1949) und ihre Kritik durch Phillips (1953)].

Das Problem von Inhaltskörpern bei Bodencorynebakterien ist bisher gleichfalls nicht ausgearbeitet worden.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Das Untersuchungsmaterial bestand aus 11 Stämmen, deren morpholgische Eigenschaften in der vorhergehenden Publikation beschrieben wurden (Kunicki - Goldfinger, Kowalska und Sabbo, 1953): 10k aus Gruppe IVK, 22k aus Gruppe IIIK, 30k aus Gruppe VK, 17a aus Gruppe VIIIS, 17d aus Gruppe VS, 18a aus Gruppe IIS, 20a aus Gruppe IS, 20c aus Gruppe VIS, 27 aus Gruppe IVS und *Corynebacterium equi* und *Cor. Hoagi*, erhalten aus dem Institut für Veterinär-Mikrobiologie der M. C. S. Universität.

Untersuchungsmethode

Die Zellmembran wurde nach 12-, 120- und 168-stündiger Bebrütung auf Nähragar gefärbt. (Die Zusammensetzung der Nährböden ist im I Teil der Arbeit angegeben worden).

* Praca niniejsza została wykonana w oparciu o dotację Sekcji Naukowej Komisji Popierania Twórczości Naukowej i Artystycznej przy Prezydium Rady Ministrów oraz częściowo — Działu Mikrobiologii I. U. N. G.

Die Gutsteinsche Methode wurde angewandt (1924 a, b, 1925) mit dem Unterschiede, dass man zur Färbung 0,25% Wasserlösung von Kristallviolett benutzte und die Färbungszeit bis auf 5 Sekunden verkürzte. Die Präparate wurden in Flammen oder mit Methylalkohol fixiert; es wurden auch feuchte, nicht fixierte Präparate gefärbt.

Nukleoid wurde in 12-, 48- und 120-stündiger Kultur auf Nähragar gefärbt. Die Präparate fixierte man in Methylalkohol. Es wurde die Methode von Piekarski-Robinow (Robinow 1947) angewandt. Nach vielen Proben erwies es sich als nötig, die Zeit der Hydrolyse bis auf 4 Minuten zu verkürzen, die Temperatur der Hydrolyse auf 58,8° zu senken und die Zeitdauer der Färbung bis auf 5 Stunden zu verlängern. (2 Tropfen Farbstoff von Giemsa auf 1 ml Phosphatpufferlösung von pH 7,2).

Volutin werde nach 12-, 48- und 120-stündiger Bebrütung auf Nähragar und Glycerolagar mit Mayer-Methylenblau gefärbt. Man prüfte die Lösbarkeit der untersuchten Strukturen in kaltem Wasser, kochendem Wasser (100°) während 2 Minuten, in Chloralhydrat, in verdünntem: HCl, H_2SO_4 und NaOH, in Alkohol, Aether, Chloroform und in Pikrinsäure. Zu Kontrollzwecken führte man gleichzeitig Untersuchungen auf *Saccharomyces cerevisiae* Zellen, welche Volutin enthalten, durch.

Glikogen entdeckte man mit Hilfe einer Behandlung der feuchten Präparate mit einer Jodlösung (J — 7 g, KJ — 20 g, destilliertes Wasser — 100 ml) in Zellen aus 48- und 120-stündiger Kultur auf Nähragar.

Zwecks näherer Identifikation untersuchte man die Lösbarkeit der Körnchen in Fettauflösern und in 5% H_2SO_4 (100°, während 3 Minuten).

Fett wurde mit Sudan III-Alkohollösung in Zellen aus 48- und 120-stündiger Kultur auf Nähragar gefärbt. Man überprüfte die Lösbarkeit der Körnchen in Etanol, Azeton, Aether und Chloroform.

Alle Kulturen wurden in Stubentemperatur (18—20°) durchgeführt.

ERGEBNISSE

Es ist festgestellt worden, dass stäbchenförmige Körper der untersuchten Diphteroiden aus Gliedern bestehen, die bei Anwendung der Gutsteinsche Methode sichtbar werden. Die Bakterien sind also „Vielzellig".

Diese Gliederung tritt ab und zu schon nach 12-stündiger Bebrütung auf, z. B. bei *Cor. equi, Cor. hougi*, Stämmen 10k, 22k, 30k (Phot. 1—5). In solchen Fällen ist die Gliedergestaltung fast kokkenförmig und ihre Zahl reicht von 2 bis 8, am häufigsten trifft man 3 — 4.

Die Zellen von etlichen Stämmen (20a, 17a, 20c) bestehen in jungen 12-stündigen Kulturen vorwiegend aus zwei etwas verlängerten Gliedern. In älteren Kulturen enthalten die stäbchenartigen Formen vorwiegend 2 bis 3 Glieder in Kokkengestaltung.

Der dritte Typus wird schliesslich durch Stämme 18a, 17a, 27 repräsentiert. In 12-stündigen Kulturen besitzen sie fast gar keine gegliederten Formen. Querwände erscheinen erst später und die Anzahl der dabei entstehenden verlängerten Glieder ist nicht gross. Bei diesem Typus ist das Bild einer ungleichmässigen Gliederung charakterstisch. Öfters besteht der Bakterienkörper aus einem verlängerten und einem oder manchmal zwei kokkenförmigen Gliedern (Phot. 5). Dieser Typus der Zergliederung ist wahrscheinlich mit dem von Krassilnikow (1934) beschriebenen identisch („Conidienabtrennung").

Die Zellmembran bei Diphteroiden färbt sich sehr zart und weniger deutlich als in *Bacillus*. Die aus dem Zerfall entstandene Kokkenformen, im allgemeinen stärker grampositiv, färben sich bei Anwendung der Gutsteinschen Methode intensiver, wobei die Membran stärker (dicker) ist.

Nukleoid in Kokkengestalt tritt einzeln auf (Phot. 8). In den Stäbchen fand man zwei vorwiegend etwa polmässig angelegte Körnchen. Längere stäbchenartige Formen enthielten bei spät in Glieder zerfallenden Stämmen ein, zwei, manchmal drei und selten mehr Körnchen (Phot. 6—8).

Bei Stämmen, die eine schnelle Zergliederung des Stäbchens produzierten erreichten die Nukleoiden eine Zahl von 3—4, manchmal Steigen sie bis auf 8 an.

Das Nukleoid besass gewöhnlich eine ovale oder unregulär eiförmige Gestalt, Ausmasse — 0,3—0,4 μ.

Der Inhalt von Rybozonukleinsäure in der Zytoplasma ist wahrscheinlich verhältnismässig nicht gross. Die Hydrolyse und das Ausspülen von Säure erfolgte sehr schnell und ab und zu waren die Nukleoiden sogar ohne vorhergehender Auslangung mit Salzsäure sichtbar.

Bei keinem der untersuchten Stämme stellte man in keinem Entwicklungsstadium die Anwesenheit von Volutin fest. Man fand zwar Körnchen vor, welche sich ähnlich wie Volutin färben, aber die Überprüfung ihrer Lösbarkeit erlaubte es festzustellen, dass sie mit Volutin nicht identisch sind. Ihre Färblichkeit erfolgte wahrscheinlich auf Grund ihres vergrösserten Rybonukleinsäuregehalt.

Bei den untersuchten Stämmen stellte man aber die Anwesenheit von Reservestoffen fest, welche sich so wie Glikogen und Fett verhielten. Glikogenkörnchen, von kleineren Dimensionen als Nukleoiden, traten einzeln in Stäbchenform auf einem der Pole auf, oder, was seltener war, zu zweien auf beiden Polen des Körpers. Nur ausnahmsweise stieg ihre Zahl bis zu drei an.

In kokkenförmigen Gestalten traf man Glikogen nicht an.

Fett war in stäbchenartigen Formen als unregulär angelegte 1 oder 2 kleine Klümpchen sichtbar, des öfteren zu zweien auf einem Pole.

DISKUSSION

Bisset und Moore (1949) bemerkten, dass Bodendiphteroiden, zu welchen auch die *Arthrobacter*-gattung gehört, sich im Gegensatz zu *Corynebacterium* durch das Fehlen von Septen auszeichnen, welche den Körper in Glieder teilen. Solche Formen werden der neugebildeten *Jensenia*-gattung angegliedert.

Bei den jetzigen Untersuchungen wurden Formen, welche dauernd ungegliedert sind, bei keinen der untersuchten Bodendiphteroiden, von welchen viele den, wenn auch nicht genauen Definitionen der *Arthrobacter* von Conn oder *Jensenia*-gattung von Bisset und Moore entsprechen, festgestellt. Einige Stämme (18a, 17a, 27) traten zwar in ihrer frühen

Entwicklungsperiode als „einzellige" Formen auf, aber bald erschienen bei ihnen Querwände, nur in kleiner Zahl.

Ähnlich fand Phillips (1953) bei *Arthrobacter* und anderen Bodendiphteroiden, einschliesslich *Jensenia cranicruria,* Querwände vor.

Unterschiede im Grade der Zergliederung bei Diphteroiden haben vielmehr einen quantitativen Charakter. Bei einigen Formen erfolgt die Zergliederung sehr schnell, fast gleichzeitig; bei anderen in späteren Entwicklungsphasen. Die Zahl der Glieder ist sogar innerhalb eines Stammes verschieden und ist Abhängig von der Art des Nährbodens. In flüssigen Kulturen erscheinen die verhältnismässig am meisten gegliederten Formen.

Unterschiede innerhalb einer Art fand Hewitt (1951) vor. *Cor. diphteriae* des *intermedius* Typus zeichnete sich durch eine grosse Anzahl von Septen aus, Typen *gravis* und *mitis* dagegen besassen nur 1 — 3 Glieder.

Wir haben gleichfalls bemerkt, dass Verzweigungen aus Abzweigungen eine Zelle entstehen, welche von ihr durch eine Querwand nicht abgetrennt sind, wie auch in einer Gliedform, welche ein deutliches Septum zwischen Verzweigung und Faden aufweist.

Diese Beobachtung steht nicht in Einklange mit den Ergebnis von Bisset (1949) und Bisset und Moore (1949) und zeugt davon, dass eine Unterscheidung auf Grund der cytologischen Bauart der *Jensenia* und Corynebakterien keine genügende Begründung hat.

Die kokkoidalen Formen könnte man, wenn man bei ihnen das Auftreten einer verhältnismässig stärkeren (dickeren) Membran und ihre Unfähigkeit zur Vermehrung vor ihrem Übergang in Stäbchenformen in Betracht zieht, als Ruheformen halten, welche den Microcysten in Auffassung von Bisset entsprechen.

Kokkoidale Formen und die Mehrzahl der Glieder sind einkernige Gebilde. Die Nukleoidteilung, wie man es auf Grund der gefärbten Präparate behaupten kann, kommt dem Erscheinen der Septen zuvor, was zur vorübergehenden Erscheinung der Glieder, welche zwei und sogar drei Nukleoiden besitzen, führt.

Über das Problem, ob bei Bodendiphteroiden ein Konfluenzprozess der Nukleoiden vorkommt, welcher bei *Mycobact. thamnopheos* durch Knaysi (1952) beobachtet wurde, wird man erst nach durchgeführten Beobachtungen im lebenden Zustande im Phasenkontrastmikroskop sprechen können.

Es verdient einer Unterstreichung, dass bei den untersuchten Stämmen kein Volutin vorkam. Das Vorhandensein dieser Substanz wird für vielen Corynebakterien für charakteristisches Merkmal gehalten. In der letzten Zeit führten Pieszkow und Niechotienowa (1948) eine sorgfältige Prüfung auf das Vorhandensein von Volutin bei *C. diphteriae Park Williams 8* durch. Nach ihrer Behauptung verschwand Volutin jedoch nach einer 4-tägigen Inkubation gänzlich. Bei dem, mit den von uns untersuchten Stämmen verwandten *Proact. citreus* fand Müller (1950) Volutin vor.

Die von uns beobachteten Körnchen, welche wahrscheinlich Rybozonukleinsäure enthalten, könnten evtl. mit Mitochondrien identisch sein, welche von Mudd und Mitarbeiter (1951) beschrieben wurden.

Zusammenfassend muss erklärt werden, dass Bodendiphteroiden sich in cytologischer Hinsicht von den Parasitencorynebakterien nicht unterscheiden und dass die Bildung einer neuen Gattung *Jensenia* auf Grund der cytologischen Bauart nicht genügend begründet ist.

Die Bedeutung der beschriebenen Tatsachen für die Systematik wird in einer besonderen Publikation veröffentlicht werden.

Wł. Kunicki-Goldfinger, Wł. Stachal i *M. Urbańska*

DYFTEROIDY GLEBOWE

II. CYTOLOGIA

Streszczenie

Przebadano budowę cytologiczną (błonę komórkową, nukleoid, ciała zapasowe — wolutynę, glikogen i tłuszcz) u 11 szczepów dyfteroidów glebowych w zależności od wieku hodowli.

Stwierdzono, że młode postacie bakterii są wielokomórkowe, zawierając kilka nukleoidów i błony poprzeczne. Stwierdzono, że nie ma zasadniczych różnic w budowie cytologicznej między bakteriami z grupy *Arthrobacter* a grupą *Corynebacterium*.

U żadnego z badanych szczepów nie znaleziono wolutyny, stwierdzono natomiast obecność ziarenek, zachowujących się jak glikogen oraz tłuszcz. Występujące u tych bakterii „ziarna metachromatyczne" nie zawierają wolutyny, są natomiast prawdopodobnie bogate w kwasy nukleinowe.

В. Куницки-Голвдфингер, В. Стахалв и М. Урбанвска

ПОЧВЕННЫЕ ДИФТЕРОИДЫ. II. ЦИТОЛОГИЯ

Резюме

Изучено цитологическую структуру (клеточную оболочку, нуклеоид, включения — волютин, гликоген и жир) у 11 штаммов почвенных дифтероидов в зависимости от возраста культур.

Установлено, что молодые особи бактерий являются „почиклеточными" организмами, так как содержат несколько нуклеоидов и поперечные стенки. Установлено, что нет существенных разниц в цитологической структуре между бактериями из группы *Arthrobacter* и группой *Corynebacterium*.

Ни у одного из исследуемых штаммов не обнаружено волютина, но установлено наличие зернышек, ведущих себя аналогично гликогену и жирам. Выступающие у этих бактерий „метахроматические зерна" не содержат волютина, но, повидимому, богаты нуклеиновыми кислотами.

LITERATUR

1. Bisset K. A., 1949: Observation upon the cytology of Corynebacteria and Mycobacteria. *J. gen. Microbiol.*, 3:93.
2. Bisset K. A. a. Moore F. W., 1949: The relationship of certain branched bacterial genera. *J. gen. Microbiol.*, 3:387.

3. Gutstein M., 1924a: Ueber die färberische Darstellung des Bakterienektoplasmas. *Zblt. Bakter., I, Orig.*, **93**:233.
4. Gutstein M., 1924b, 1925: Das Ektoplasma der Bakterien. I. u. II., *Zblt. Bakter., I, Orig.*, **93**:393, **94**:145.
5. Hewitt L. F., 1951: Cell structure of *Corynebacterium diphteriae.*, *J. gen. Microbiol.*, **5**:287.
6. Kunicki-Goldfinger Wł., Kowalska J. u. Sabbo M., 1953: Bodendiphtheroiden. I. Morphologie und Wachstumseigenschaften. *Acta Microbiol Polon.* **2**:277.
7. Knaysi G., 1952: The structure, division and fusion of nuclei observed in living cells of *Mycobact. thamnopheos.*, *J. Bacter.* **64**:859.
8. Morris E. O., 1951: Observation on the life-cycle of the *Nocardia*. *J. Hyg.*, **49**:175.
9. Mudd S., Winterscheid L. C., De Lamater E. D. a. Henderson H. J., 1951: Evidence suggesting that the granules of Mycobacteria are mitochondria. *J. Bacter.*, **62**:459.
10. Mueller H., 1950: Oxalsäure als Kohlenstoffquelle für Mikroorganismen. *Arch Mikrobiol.*, **15**:137.
11. Pieszkow M. A. Niechotienowa E. J., 1948: Cytologiczeskije priznaki *Corynabact, diphteriae Park Williams 8., Mikrobiologija* **17**:229.
12. Phillips H. C., 1953: Charakterization of the soil Globiformae bacteria. *Iowa St. College J. of Sci.*, **27**:240.
13. Robinow C. F., 1947: Nuclear apparatus and cell structure of rod-shaped bacteria. Addendum to Dubos R. J.: The bacterial cell. Harvard Univ. Press. Cambridge.

Die Übersetzung in deutsche Sprache führte Herr Stanisław Perliński aus, wofür die Autoren ihm herzlichen Dank aussagen.

TAFELERKLÄRUNGEN

TAFEL I

Phot. 1 — *Corynebacterium equi*, aus 18-stündig. Kultur.

Phot. 2 — *Cor. hoagi*, aus 18-stündig. Kultur.

Phot. 3 — Stamm *10k*, 18-stündig. Kultur.

Phot. 4 — Stamm *17a*, aus 12-stündig. Kultur.

Phot. 5 — Stamm *18a*, aus 120-stündig. Kultur.

Phot. 6 — Stamm *10k*, aus 12-stündig. Kultur.

Phot. 7 — Stamm *17a*, aus 48-stündig. Kultur.

Phot. 8 — *Cor. equi*, aus 6-stündig. Kultur.

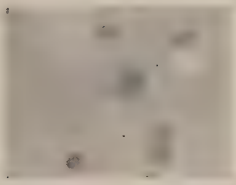
Fixierung — Methanol. Phot. 1—5: Färbung nach Gutstein. Phot. 6—8: Färbung nach Robinow-Piekarski.

Mikroskop-Kamera „Mikrophot", Reichenow, ROW. Immerssionsobiektive, Apochromat. 90x. N A 1.40 — Zeiss. Lumipan, Okulare — 12x, bei Phot. 6 — Ortho. 25x.

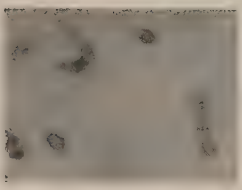
Tablica I

Tafel I

1

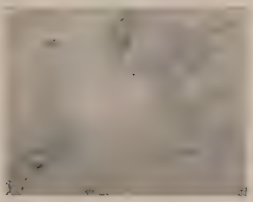


2



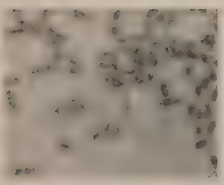
3

4

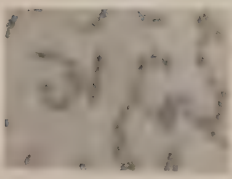


5

6

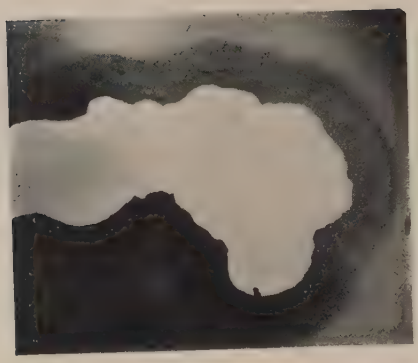


7



8

Tablica II



Fot. 1 — Liza martwych bakterii *S. typhi* zawartych w podłożu przez *S. lutea*

Бактериолиз обумерших бактерий *S. typhi*, содержащихся в субстрате, вызванный *S. lutea*

Lysis of dead *Salmonella typhi* cells incorporated into agar-medium by *Sarcina lutea*

Acta Microbiologica Polonica Vol II, No 4

R. Pakuła, M. Tyc i *W. Walczak*

AKTYWNOŚĆ BAKTERIOLITYCZNA SZCZEPU *SARCINA LUTEA*

Z Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

Wpłynęło dn. 11.V.1953 r.

W toku poszukiwań szczepów promieniowców o właściwościach bakteriolitycznych izolowano z powietrza szczep *Sarcina lutea*, który rozpuszczał martwe bakterie gram-ujemne.

Zjawisko bakteriolizy obserwowano w następujących warunkach. Rozpuszczano 13 ml podłoża agarowego, oznaczonego literą A (woda wodociągowa — 1000 ml, asparagina — 0,5 g, K_2HPO_4 — 0,5 g, glukoza — 10 g, agar — 12,5 g), dodawano martwych bakterii aż do osiągnięcia stężenia 2 miliardy na 1 ml i wylewano podłoże do płytki Petriego o średnicy 9 cm. Po zastygnięciu podłoża nakładano w jednym jego miejscu kilka kropel bulionowej hodowli *S. lutea*. Płytkę umieszczano w temp. 30° i następnie mierzono w odstępach dobowych pas lizy około wyrośniętych kolonii *S. lutea*.

W tych warunkach stwierdzono, iż omawiany szczep rozpuszcza pałeczki duru brzusznego, durów rzekomych, pał. okrężnicy i odmieńca. Nie zauważono żadnego działania *S. lutea* na martwe bakterie gram-dodatnie: laseczkę sienną, paciorkowce i gronkowce (Fot. 1). *

Jest rzeczą od dawna znaną, iż niektóre szczepy promieniowców z rodzaju *Streptomyces* wytwarzają silne bakteriolizyny, rozpuszczające martwe bakterie gram-dodatnie i ujemne, jak również żywe bakterie niektórych gatunków (Jones, Swallow i Webb, 1948, Mc Carthy 1952a, b, Muggleton i Webb 1952, Welsch 1942, 1947). Z tego względu uważaliśmy za stosowne porównać w wyżej opisanych warunkach doświadczalnych aktywność bakteriolityczną naszego szczepu *S. lutea* z jednym ze szczepów *Streptomyces* z naszej kolekcji, jakkolwiek zdawaliśmy sobie sprawę, iż mechanizm bakteriolizy jest w obu przypadkach odmienny. Wybrany do tego celu szczep *Streptomyces*, oznaczony u nas jako nr 15, był bardziej aktywny niż pozostałe szczepy naszej kolekcji. Aktywność lityczna szczepu *S. lutea* i *Streptomyces 15* przedstawiona jest w tabeli I.

Gdy w podłożu agarowym znajdowały się inne bakterie gram-ujemne: pał. odmieńca, duru i durów rzekomych, otrzymane wyniki były podobne. Jak widać z tab. I na podłożu *A* siła lityczna *S. lutea* w stosunku do pałeczek gram-ujemnych mierzona wielkością strefy, w której bakterie uległy rozpuszczeniu, była mniej więcej taka sama, jak siła lityczna szczepu *Streptomyces 15*.

* Fotografia — patrz tablica II.

Tabela 1

Porównanie aktywności bakteriolitycznej *S. lutea* i *Streptomyces 15*
(Zasięg lizy w milimetrach)

Бактериолитическая активность *S. lutea* и *Streptomyces 15*
(Зона лизиса в мм)

Comparison of bacteriolytic activity of *Sarcina lutea* and *Streptomyces 15*
(diameter of zone of lysis in mm)

Martwe bakterie zawarte w podłożu	*S. lutea* po dniach: 2	3	5	6	*Streptomyces 15* po dniach: 2	3	5	6
E. coli	4 mm	7 mm	10 mm	12 mm	ślad	3 mm	7 mm	10 mm
S. aureus	—	—	—	—	ślad	4 mm	8 mm	11 mm

W dalszych doświadczeniach stwierdzono, iż zastąpienie asparaginy w podłożu *A* kwaśnym hydrolizatem kazeiny lub wodnym wyciągiem hydrolizatu drożdży wzmaga znacznie aktywność bakteriolityczną omawianego szczepu *S. lutea*. Tak np. na podłożu *A*, w którym asparaginę zastąpiono tą samą ilością hydrolizatu kazeiny, strefa, w której bakterie uległy rozpuszczeniu, wynosiła po 2 dobach — 7 mm, po 4 — 11 mm, po 6 — 19 mm. W tych warunkach wzrosła również aktywność lityczna szczepu *Streptomyces 15*, ale pozostawała na poziomie nieco niższym niż szczepu *S. lutea* (po 6 dobach — 17 mm).

Ciekawe było zagadnienie, czy *S. lutea* może wykorzystać jako źródło azotu substancje azotowe powstałe wskutek rozpuszczenia bakterii. Dla wyjaśnienia tej sprawy przygotowano podłoże agarowe *A* bez asparaginy i dodano do niego 2 miliardy komórek pał. okrężnicy na 1 ml. Na podłoże to nałożono w jednym miejscu 0,1 ml bulionowej hodowli *S. lutea*, zaś w drugim miejscu samą gęstą zawiesinę komórek *S. lutea* w 0,85% roztworze NaCl. Liczyć się należało z możliwością, iż w pierwszym przypadku drobna ilość bulionu użytego do zaszczepienia wystarczy dla zapoczątkowania wzrostu i wytworzenia pewnej ilości bakteriolizyn, co w następstwie umożliwiłoby wykorzystanie rozpuszczonych bakterii jako źródła azotu dla *S. lutea*.

Doświadczenia wykazały, iż w pierwszym przypadku wzrost był normalny, przy czym wokoło wzrostu *S. lutea* powstawał pas lizy, który po 6 dniach wynosił średnio 10 mm. W drugim przypadku zauważono jedynie ślad wzrostu, natomiast liza w ogóle nie wystąpiła.

Z doświadczenia tego wynika, iż *S. lutea* może wykorzystać jako źródło azotu produkty powstałe po rozpuszczeniu bakterii.

W toku badań poddano bakterie gram-dodatnie, zabite w temp. 60°, działaniu różnych czynników, a następnie badano, czy zmienione przez te czynniki komórki, umieszczone wewnątrz podłoża agarowego, ulegną rozpuszczeniu przez *S. lutea*. Tak np. działano na paciorkowce i gronkowce rybonukleazą, żółcią, alkoholem 70% i trypsyną. Bakterie gram-dodatnie traktowane wyżej wymienionymi substancjami pozostawały tak samo niewrażliwe

na działanie *S. lutea*, jak i komórki zabite, na które tymi substancjami nie działano.

Aktywność bakteriolityczna omawianego szczepu *S. lutea*, hodowanego na odpowiednich stałych podłożach zawierających martwe bakterie gram-ujemne, jest bardzo wyraźna, jednakże jałowe przesącze płynnych hodowli o takim samym składzie substancji odżywczych w ogóle bakterii nie rozpuszczają. Ilość komórek martwych bakterii duru brzusznego, pał. okrężnicy oraz innych bakterii gram-ujemnych dodana do jałowego przesączu płynnej hodowli *S. lutea* nie ulega zmniejszeniu, nie zmienia się również ich barwliwość.

Zjawisko bakteriolizy zachodzi jednak, jeśli do płynnej hodowli *S. lutea* dodać martwych bakterii. W tych warunkach po 2—4 dobach prawie wszystkie komórki martwych bakterii znikają, pozostają jedynie nieliczne, a i te wykazują bardzo słabą barwliwość i wyglądają jak cienie komórek o zmienionych kształtach.

Rozpuszczenie bakterii w płynnych hodowlach *S. lutea* obserwowano w warunkach silnej aeracji hodowli na trzęsawce. W nieprzewietrzanych płynnych hodowlach bakteriolizy nie obserwowano.

W płynnych hodowlach w warunkach dobrej aeracji, *S. lutea* wytwarza dużo pigmentu, a w nie przewietrzanych hodowlach ilość pigmentu jest nieznaczna.

Na stałych podłożach, w których źródłem azotu jest asparagina, *S. lutea* wytwarza nieznaczną ilość barwnika i bakteriolizyn. Zastąpienie asparaginy wyciągiem wodnym hydrolizowanych drożdży lub hydrolizatem kazeiny wzmaga wytwarzanie bakteriolizyn i pigmentu.

Z powyższych obserwacji wynika, iż czynniki sprzyjające wytwarzaniu pigmentu powodują również zwiększenie aktywności bakteriolizyn albo też wzmagają ich wytwarzanie. Nie ustalono jednak, czy pigment odgrywa jakąś rolę w rozpuszczaniu bakterii.

W przypadku bakteriolitycznych szczepów promieniowców czynnik lityczny przenika do podłoża i jego obecność stwierdzamy w jałowych przesączach. Obecność czynnika litycznego, wytwarzanego przez *S. lutea*, jest natomiast związana ze wzrostem tego drobnoustroju. Czynnik bakteriolityczny jest według wszelkiego prawdopodobieństwa i w tym przypadku wydzielany z komórek, gdyż inaczej trudno by było sobie wyobrazić jego działanie w pewnym oddaleniu od komórek *S. lutea*, sięgającym do 20 mm. Być może, po wydzieleniu jest adsorbowany przez martwe komórki pałeczek gram-ujemnych, a w przypadku ich braku ulega inaktywacji.

P. Пакула, M. Тыц и B. Валевчак

БАКТЕРИОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММА *SARCINA LUTEA*

Резюме

Из воздуха был выделен штамм *Sarcina lutea*, который растворяет обумершие грам-отрицательные бактерии, содержащиеся на агаровом субстрате. В стационарных жидких культурах, к которым прибавлено грам-отрицательные бактерии, явления бактериолиза не замечено. Однако *S. lutea* растворяет бактерии, куль-

тивированные на жидких средах в условиях сильной аэрации культуры. Стерильные фильтраты жидких культур не проявляют бактериолитической активности.

У *S. lutea* выступает определенный параллелизм между образованием пигмента и образованием бактериолизин; однако не установлено, играет ли пигмент какую нибудь роль в процессе бактериолиза.

R. Pakuła, M. Tyc and *W. Walczak*

THE BACTERIOLYTIC ACTIVITY OF A STRAIN OF *SARCINA LUTEA*

Summary

A strain of *S. lutea* has been isolated from air, which causes lysis of dead gram-negative bacteria incorporated into an agar medium. In sterile filtrates of fluid cultures or in stationary fluid cultures to which dead bacteria were added no lysis was observed, but *S. lutea* causes lysis of dead bacteria in fluid cultures aerated by shaking.

Some correlation between pigment and bacteriolysin production was observed, but it is not known, whether the pigment-production is of some importance in bacteriolysis.

LITERATURA

1. Jones A. S., Swallow A. J. a. Webb M., 1948: The exocellular bacteriolytic system of soil Actinomyces. I. The nature and properties of the lytic system. *Biochim. Biophys. Acta,* **2**:167.
2. Mc Carthy, MacLyn, 1952a: The lysis of group A hemolytic streptococci by extracellular enzymes of *Streptomyces albus*. I. Production and fractionation of the lytic enzymes. *J. Exp. Med.,* **96**:555.
3. Mc Carthy, MacLyn, 1952b: The lysis of group A hemolytic streptococci by extracellular enzymes of *Streptomyces albus*. II. Nature of the cellular substrate attacked by the lytic enzymes. *J. Exp. Med.,* **96**:569.
4. Muggleton P. W. a. Webb M., 1952: The exocellular bacteriolytic system of soil Actinomyces. II. A further investigation of the lytic system. *Biochim, Biophys. Acta,* **8**:431.
5. Welsch M., 1942: Bacteriostatic and bacteriolytic properties of actinomycetes. *J. Bact.,* **44**:571.
6. Welsch M., 1947: Activitè bacteriolytique de certaines actinomycètimes sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus megatherium* vivants. *Bull. soc. chim. biol.,* 29:362.

J. Strzemska

ZAGADNIENIE MIKORYZY U ZBÓŻ

CZ. III. PSZENICA

Z Działu Mikrobiologii I. U. N. G. w Puławach

Wpłynęło dnia 22.IV.1953 r.

Publikacja niniejsza jest trzecią z kolei częścią badań nad rozpowszechnieniem i nasileniem rozwoju mikoryzy u zbóż. Uprzednio ogłoszono już wyniki badań nad mikoryzą u owsa i żyta (Strzemska, 1949, 1951). Zamknięcie tego cyklu studiów stanowić będą badania nad jęczmieniem.

Celem pracy było prześledzenie rozwoju grzybów wchodzących w symbiozę z pszenicą w zależności od rodzaju i odczynu gleby oraz od stadium rozwojowego rośliny. Ze względu na to pobrano próbki korzeniowe pszenicy z pól położonych na różnych rodzajach gleb nadających się do uprawy tej rośliny. Odczyn tych gleb wahał się w granicach pH 6,0 — 8,0. Próbki korzeni pobierano w kilku okresach: 1) na jesieni, po rozkrzewieniu się roślin, 2) na wiosnę, po przezimowaniu, 3) w czasie kłoszenia lub kwitnienia, 4) w stadium dojrzewania roślin.

Korzenie pszenicy pospolitej (*Tr. vulgare*) zebrano na jesieni 1947 r. oraz w okresie wiosny i lata 1948 r. W celu uzupełnienia niniejszych badań i porównania rozwoju mikoryzy u różnych gatunków pszenicy, w jesieni 1952 r. zebrano dodatkowo próbki korzeni: pszenicy twardej (*Tr. durum*, odm. Puławska twarda i Hela), pszenicy olbrzymiej (*Tr. polonicum*), pszenicy płaskurki (*Tr. dicoccum*), pszenicy samopszy (*Tr. monococcum*), orkiszu pszennego (*Tr. spelta*).

W sumie zebrano 39 próbek korzeni pszenicy, z których sporządzono 468 trwałych preparatów. Metodykę zastosowano tę samą, co w badaniach nad owsem i żytem[1]. (Strzemska, 1949, 1951).

WYNIKI BADAŃ

1. Przebieg zakażenia i rozwój grzybni w korzeniach pszenicy

Na podstawie licznych obserwacji stwierdzono, że infekcja korzeni pszenicy może się odbywać zarówno poprzez włośniki (rys. 1), jak też i przez dowolną komórkę epidermy (rys. 2). Przedostawanie się nitek grzybni przez włośniki było jednak obrazem spotykanym w badanych preparatach znacznie częściej. Nitka grzybni rozgałęzia się z reguły w rozszerzonej części

[1] Przy barwieniu preparatów metodą Stoughtona używano 0,1% thioniny, a nie 1%, jak mylnie podano w pracy omawiającej wyniki badań nad mikoryzą u żyta (Strzemska, 1951).

włośnika lub w najbardziej zewnętrznych komórkach kory pierwotnej. Niekiedy jednak rozgałęzienia te powstają już w tej części włośnika, która wybiega poza obręb korzenia. Grzybnia przedostaje się następnie do komórek bardziej wewnętrznych i dąży do ich warstwy położonej bezpośrednio wokół walca osiowego, gdzie tworzy charakterystyczne sploty. Nitki grzybni rozwijają się nie tylko w komórkach, ale również w przestrzeniach międzykomórkowych. W tym ostatnim przypadku najlepiej można je obserwować w przekroju podłużnym korzenia: tworzą one czasem nieliczne i drobne rozgałęzienia, z reguły jednak przerastają korzeń wzdłuż. W badanych preparatach długość nitek grzybni dochodziła do 1609,5 μ. Grubość nitek wynosiła od 3,7 μ do 11,1 μ. Grzybnię tę obserwowano zarówno w przekroju poprzecznym korzenia, jak i podłużnym. W przekroju poprzecznym widoczna jest w różnych komórkach kory pierwotnej. Najsilniej rozwija się w komórkach otaczających walec osiowy, gdzie sploty jej tworzą często zbitą masę. W okresie trawienia przez roślinę grzybnia rozpada się na bezkształtne bryłki. Zmiany, którym ulega skład chemiczny grzybni podczas jej trawienia przez roślinę, uwidoczniają się między innymi w reagowaniu jej na barwniki. Nitki nie naruszone przez roślinę przy barwieniu metodą Stoughtona (thionina, różnicowanie przez Orange G) przybierają barwę od ciemno — do jasnofiołkowej. Natomiast grzybnia w stanie rozpadu barwi się na kolor szarogranatowy, szary, zielonkawy lub żółtawy.

W przekroju podłużnym obserwować można rozgałęzianie się grzybni zarówno w kierunku pionowym, jak i poziomym. Wyraźnie widoczne jest również tworzenie gron (rys. 9).

Na zakończeniach nitek powstają ponadto bardzo często utwory kuliste lub owalne (rys. 8). Obserwować je można zrówno w przekroju poprzecznym korzenia, jak i w podłużnym. W tym ostatnim przypadku można stwierdzić, że często wypełniają one całkowicie wnętrze komórki. W preparatach zależnie od cięcia widoczne są one w całości lub też w przekroju. Przecięte dwoma płaszczyznami równoległymi najczęściej robią wrażenie niczym nie wypełnionych. Niekiedy jednak obserwowano w nich obecność granulacji barwiącej się tak samo, jak grzybnia na kolor fiołkowy. Wielkość tych utworów wahała się znacznie, bo w granicach 37,0μ — 140,6μ × 29,6μ — 92,5μ.

W jednym z preparatów pochodzących z korzeni *Tr. spelta* stwierdzono ciekawy fakt owocowania grzyba w komórkach kory pierwotnej korzenia (rys. 10). Sądząc po wyglądzie i wymiarach grzybni jest to grzyb wchodzący we współżycie z korzeniami pszenicy. Jest to przypuszczalnie wypadek rzadki, gdyż na ogólną ilość 1284 zbadanych preparatów z korzeni zbóż (owsa, żyta, pszenicy) obraz taki znaleziono tylko w tym jednym preparacie. Zarodniki mają kształt kulisty, o średnicy 3,7μ. Zarodniki i trzonek, na którym są osadzone, w barwionym preparacie są oliwkowobrunatne. Trudno sądzić, czy jest to barwa naturalna.

Grzyb ten zostanie określony później.

Należy jeszcze podkreślić, że w żadnym ze zbadanych preparatów grzyb tworzący mikoryzę nie przenikał do walca osiowego. Obserwowano wprawdzie rozwój grzybni w walcu osiowym, lecz podobnie jak u żyta grzybnia ta miała wyraźnie inny wygląd: była znacznie cieńsza, delikatniejsza, o liczniejszych przegródkach i bardzo słabo barwiła się przy stosowanej metodzie Stoughtona. Był to więc przypuszczalnie jakiś inny rodzaj czy też gatunek grzyba o charakterze pasożytniczym.

Na podstawie przytoczonego opisu grzybni symbiotycznej i jej rozwoju sądzimy więc, że w korzeniach pszenicy tworzy się typowa mikoryza wewnętrzna.

2. Porównanie rozwoju mikoryzy u różnych gatunków pszenicy

Głównym celem pracy było zbadanie rozwoju mikoryzy u pszenicy pospolitej (*Tr. vulgare*) zarówno ozimej, jak i jarej. Zaznaczyć należy, że zasadniczych różnic w rozpowszechnieniu i nasileniu rozwoju grzybów symbiotycznych u pszenicy jarej i ozimej nie stwierdzono.

Porównując różne gatunki pszenic można zauważyć pewne różnice w rozpowszechnieniu i nasileniu rozwoju grzybów mikoryzowych. Poczynając od gatunków, w których mikoryza jest najbardziej rozpowszechniona, można je uszeregować w sposób następujący: *Triticum dicoccum, Tr. vulgare, Tr. monococcum, Tr. durum, Tr. spelta, Tr. polonicum.*

Triticum durum odm. Hela pod względem częstości rozwoju w niej mikoryzy zajmuje w tym szeregu miejsce pośrednie, ale zwraca uwagę najobfitszym rozwojem grzybni w tych korzeniach, które zostały zakażone.

Ponieważ u wszystkich zbadanych gatunków stwierdzono występowanie mikoryzy, można przyjąć, że zjawisko to jest charakterystyczne dla rodzaju *Triticum.*

Sposób zakażania i rozwoju oraz wygląd grzybni i jej wymiary sprawiały wrażenie jednakowych u wszystkich badanych gatunków. Można więc przypuszczać, że we współżycie z wymienionymi gatunkami pszenicy wchodzi albo jeden gatunek grzyba, albo też jego gatunki blisko spokrewnione ze sobą.

3. Nasilenie rozwoju mikoryzy w zależności od rodzaju gleby i od jej odczynu

Poddając analizie tabl. I można stwierdzić, że mikoryza u pszenicy występuje powszechnie. Stwierdzono jej obecność w korzeniach roślin pochodzących ze wszystkich badanych gleb, których odczyn pozostawał w granicach pH 6,0 — 8,0. Ponieważ próbki roślin do badań pobierano tylko ze stanowisk odpowiednich dla uprawy pszenicy, nie ma wśród nich roślin pochodzących np. z lekkich gleb piaszczystych. To samo dotyczy skali odczynu gleb — nie badano korzeni z gleb silniej zakwaszonych. W obrębie zbadanego materiału nie stwierdzono wpływu rodzaju gleby i jej odczynu na rozpowszechnienie i nasilenie rozwoju grzybów żyjących w symbiozie z pszenicą.

4. Nasilenie rozwoju mikoryzy w poszczególnych częściach korzeni i jego zależność od wieku roślin

U pszenicy, tak samo jak u owsa i żyta, grzyby symbiotyczne rozwijają się w korzeniach bocznych całej wiązki korzeniowej (tabl. I, korzenie oznaczone a, b, c) oraz we wtórnych korzeniach przybyszowych (tabl. I, d). Najpowszechniej jednak i najobficiej rozwijają się w korzeniach bocznych środkowego odcinka wiązki korzeniowej.

Przechodząc do rozpatrzenia rozwoju mikoryzy pszenicy w związku z wiekiem roślin można stwierdzić, że nie tylko u roślin jarych, ale i u ozimych mikoryza z reguły tworzy się w okresie krzewienia tych zbóż na wiosnę (tabl. I). W jednym tylko preparacie z korzeni pszenicy ozimej, pobranych w okresie jesiennym, znaleziono nitki grzyba symbiotycznego. W miarę postępującego rozwoju roślin zjawisko mikoryzy staje się coraz to bardziej powszechne. Zwiększa się również nasilenie rozwoju grzybni.

Przenikanie grzybni do korzeni zachodzi w ciągu całego okresu wegetacji, aż do stadium dojrzałości roślin. Również bezustannie odbywa się proces trawienia symbionta grzybowego, który rozpoczyna się już w okresie krzewienia się pszenicy i trwa do jej dojrzałości.

5. Budowa korzeni a mikoryza

Na podstawie badań przeprowadzonych nad pszenicą stwierdzono występowanie zjawiska deformacji korzeni pozbawionych mikoryzy, które obserwowano już poprzednio u owsa i żyta. Tak samo jak u tych dwóch roślin u pszenicy zauważyć można w tym wypadku różne deformacje korzeni. W przekroju poprzecznym kształt ich jest nieregularny, odbiegając od normalnego, kolistego (rys. 5, 6, 7). Silniej zniekształcone korzenie tworzą liczne faliste wypustki. Kształty komórek w tych korzeniach są również nieregularne. Niekiedy błony komórkowe są tak silnie pofałdowane, że trudno odróżnić poszczególne komórki. Te natomiast korzenie, w których rozwijają się grzyby symbiotyczne, mają regularne kształty, a komórki ich w przekroju poprzecznym tworzą wieloboki lub też mają kształty owalne. Ogólnie biorąc, korzenie zakażone przez grzyby mikoryzowe robią wrażenie zdrowych i dobrze wykształconych (rys. 3).

Nie stwierdzono, by deformacje zależały od rodzaju gleby, od jej odczynu, czy też od stadium rozwojowego roślin. Wiążą się one wyraźnie z brakiem symbionta grzybowego. Zjawisko to występuje zarówno w korzeniach bocznych, jak i we wtórnych korzeniach przybyszowych.

6. Porównanie mikoryzy u owsa, żyta i pszenicy

W korzeniach wszystkich trzech zbadanych rodzajów roślin rozwija się mikoryza wewnętrzna. Jej rozpowszechnienie i nasilenie jej rozwoju jest niezależne od rodzaju i odczynu gleby, wyraźnie natomiast wzrasta wraz z wiekiem roślin. Obok tych właściwości zbieżnych stwierdzono pewne różnice. U owsa grzyby symbiotyczne rozwijają się najsilniej w korzeniach bocznych środkowego i dolnego odcinka wiązki korzeniowej, a u żyta i pszenicy — w korzeniach bocznych partii środkowej. Różnice występują też w sposobie zakażenia: u owsa stwierdzono przenikanie nitek grzybni wyłącznie przez włośniki, a u żyta i pszenicy zarówno przez włośniki, jak i przez dowolne komórki epidermy nie przekształcone we włośniki. Podczas gdy jednak dla żyta można przyjąć jako regułę ten ostatni sposób infekcji, w wypadku pszenicy grzyby przenikają do korzenia najczęściej przez włośniki. Grubość nitek grzybni w korzeniach żyta i pszenicy mieści się w tych samych granicach, odbiega ona natomiast znacznie od grubości nitek grzybni współżyjącej z owsem. Mianowicie grubość grzybni wynosi u owsa przeciętnie 1,4 μ, a u żyta i pszenicy 3,7 μ — 11,1 μ.

W wielkości pęcherzyków wytwarzanych przez grzyb na zakończeniach nitek zaznaczają się różnice we wszystkich trzech wypadkach: w korzeniach owsa dochodziły one do wielkości 29,6 μ × 22,2 μ, u żyta miały wymiary 103,6 μ × 33,3 μ, a u pszenicy osiągają one największe wymiary, 37,0 μ — 140,6 μ × 29,6 μ — 92,5 μ.

Na podstawie sposobu infekcji, wyglądu grzybni, grubości jej nitek i wielkości pęcherzyków powstających na ich zakończeniach można sądzić, że grzyby współżyjące z żytem i z pszenicą są albo identyczne, albo też bardzo zbliżone pod względem systematycznym. Różnią się natomiast od grzyba wchodzącego w symbiozę z owsem.

WNIOSKI OGÓLNE

Badania przeprowadzone nad mikoryzą pszenicy wykazały:

1) W korzeniach pszenicy rozwija się mikoryza wewnętrzna (rys. 3, 4). Przenikanie grzybni do korzeni odbywa się najczęściej przez włośniki, stwierdzono jednak w około 25% przypadków infekcję zachodzącą bezpośrednio przez komórki epidermy nie przekształcone we włośniki.

2) Nie stwierdzono zależności pomiędzy rozwojem i nasileniem grzybów mikoryzowych a rodzajem gleby i jej odczynem. Nasilenie rozwoju grzybów mikoryzowych wzrasta wraz z wiekiem roślin. Najobficiej rozwijają się one w okresie dojrzewania pszenicy.

3) Trawienie grzybni przez roślinę rozpoczyna się już w czasie krzewienia roślin na wiosnę i trwa przez cały okres wegetacji.

4) Grzyby mikoryzowe opanowują korzenie boczne całej wiązki korzeniowej. Najczęściej i najobficiej rozwijają się jednak w korzeniach bocznych partii środkowej.

5) Przy braku symbiontów grzybowych korzenie pszenicy ulegają deformacji (rys. 5, 6, 7).

6) Grzyby współżyjące z żytem i pszenicą są albo takie same, albo bardzo do siebie zbliżone. Różnią się natomiast wyraźnie od grzyba wchodzącego w symbiozę z owsem.

7) Obecność mikoryzy stwierdzono u wszystkich uwzględnionych w niniejszych badaniach gatunków pszenicy. Jej rozpowszechnienie wzrastało wg następującej kolejności: *Tr. dicoccum, Tr. vulgare, Tr. monococcum, Tr. durum, Tr. spelta, Tr. polonicum.* Pod względem obfitości rozwoju grzybni w tych korzeniach, które zostały zakażone przez grzyb, na pierwsze miejsce wysuwa się *Tr. durum* odm. Hela. We współżycie z wymienionymi gatunkami pszenicy wchodzi albo ten sam gatunek grzyba, albo gatunki blisko spokrewnione ze sobą. Można też sądzić, że tworzenie mikoryzy jest charakterystyczne dla rodzaju *Triticum.*

8) W korzeniach *Tr. spelta* stwierdzono wypadek owocowania grzyba mikoryzowego (rys. 10).

Я. Стржемска

ОБРАЗОВАНИЕ МИКОРИЗЫ У ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ

Ч. III. ПШЕНИЦА

Резюме

Исследовано распространение и степень развития микоризы у пшеницы в зависимости от рода почвы, кислотности среды и возраста растений.

Исследованиям были подвергнуты следующие виды пшеницы: *Tr. vulgare, Tr. durum, Tr. polonicum, Tr. dicoccum, Tr. monococcum, Tr. spelta.*
Заготовлено свыше 450 корневых препаратов.

Выводы:

1. Микориза распространена у всех исследуемых видов пшеницы. Она представляет собой типичный эндофит (рис. 3 и 4).
2. Степень зараженности пшеницы микоризой не зависит от рода и кислотности почвы (т. I). Количество ее увеличивается с возрастом растений (т. I).
3. Поперечные разрезы корней, не зараженных микоризными грибами отличаются неправильными, чудовищными контурами и деформацией отдельных клеток (рис. 5, 6, 7).
4. На одном из препаратов корней *Tr. spelta* ясно видно плодоношение гриба (рис. 10).

J. Strzemska

THE MYCORRHIZA OF CORN PLANTS

P. III. WHEAT.

Summary

The author investigated the occurence and development of mycorrhiza in wheat and its dependence on the kind and pH of soil, and on the age of plants.

Following species of wheat were studied: *Triticum vulgare, Tr. durum. Tr. dicoccum, Tr. monococcum, Tr. spelta* and *Tr. polonicum.*

More than 450 preparations of root samples have been examined in that respect.

The main conclusions are the following:

1. All investigated species of wheat have an endotrophic mycorrhiza (fig. 3 and 4). The most abundant mycorrhiza was found in *Tr. dicoccum* and *Tr. vulgare* (Table I).

2. The intensity of development of the mycorrhiza is independent of the kind and pH of soil. It increases with the age of plants (Table I).

3. The roots that are not infected with mycorrhiza have an irregular shape and the root-cells are deformed (fig. 5, 6 and 7).

4. In one preparation of the root of *Tr. spelta* fructification of the fungus was observed (fig 10).

LITERATURA

1. *Strzemska J.*, 1949: Zagadnienie mikoryzy u zbóż, Cz. I. Owies. *Annales UMCS, Lublin, Sec. E.* 4:359.
2. Strzemska J., 1951: Zagadnienie mikoryzy u zbóż, Cz. II. Zyto, *Acta Microbiol. Polon.*, 1:24.

Całkowita literatura przedmiotu zostanie podana na innym miejscu, przy syntetycznym omówieniu badań nad mikoryzą u zbóż.

Tablica I.

Nasilenie rozwoju mikoryzy w różnych rodzajach gleb, o różnym pH, w kolejnych stadiach rozwojowych roślin oraz w poszczególnych badanych korzeniach

Интенсивность заражения корней микоризой в зависимости от почвы, ее кислотности и возраста растений

The intensity of mycorrhiza formation in individual roots in relation to the kind of soil, its acidity and to the age of the plants

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII											
L. p.	Miejscowość	Rodzaj gleby	pH gleby (oznaczone w KCl)	Gatunek	Typ zbóż	Stadium rozwojowe rośliny	Nasilenie rozwoju mikoryzy											
							a			b			c			d		
							1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	Wronów (pow. Puławy)	Bielica średnia	6,0-6,2	*Triticum vulgare*	Ozime	I B	○	***	***	**	**	****	**	○	*	○	○	○
						II	○	○	****	***	*	○	***	***	***	**	**	***
						III	**	**	***	○	*	****	*	**	**	○	*	***
2	Osiny (pow. Puławy)	Bielica na glinie marglowej	6,0-7,0	„	Jare	I	**	***	***	○	○	****	○	○	***	○	○	○
						II	***	○	****	***	****	***	***	****	***	*	○	***
						III	****	***	**	○	****	****	****	***	****	***	***	**
3	Końskowola (pow. Puławy)	Less brunatny	7,0-7,5	„	Ozime	I A	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	**
						I B	○	○	○	○	○	○	***	○	****	○	○	○
						II	○	***	****	****	***	****	○	*	○	○	○	***
						III	***	***	**	○	*	**	*	**	***	**	○	****
4	Garbów (pow. Puławy)	Less brunatny	7,0-7,5	„	„	I A	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
						I B	○	**	○	****	***	○	○	**	**	○	○	○
						II	○	○	****	**	○	*	*	○	****	○	○	****
						III	*	***	○	****	****	****	****	○	****	*	○	○
5	Hostynne (pow. Hrubieszów)	Less szaroprochniczny węglanowy	8,0	„	„	II	○	****	○	****	****	****	***	****	*	○	○	***
6	Hrubieszów	Czarnoziem	8,0	„	„	II	○	○	○	○	○	○	**	○	***	○	○	○
7	Wrzelów (pow. Puławy)	Mada lekka płytka na piasku aluwialnym	6,0-6,5	„	„	I A	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
						I B	○	○	***	**	○	○	*	○	○	○	○	○
						II	***	****	***	○	**	*	○	**	****	****	○	****
						III	***	****	****	****	*	****	*	**	****	**	○	****
8	Puławy (Kępa)	Mada średnia, płytka	6,7-7,0	„	„	I A	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
						I B	○	○	○	****	****	****	***	*	○	○	○	○
						II	○	○	****	****	****	****	***	**	**	***	*	***
						III	****	***	****	**	****	****	**	****	***	**	○	*
9	Puławy (Kępa)	Mada mocna	6,7-7,0	„	„	I A	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
						I B	*	○	○	○	○	○	○	**	○	○	○	○
						II	***	****	****	****	****	****	****	***	○	*	○	○
						III	****	****	****	****	***	***	○	○	○	○	○	○
10	Chełm (Zakł. Dośw.)	Rędzina	8,0	„	„	II	**	***	****	○	○	***	○	**	***	○	○	○
						III	**	○	○	○	○	**	*	***	****	○	**	***
11	Chełm (Zakł. Dośw.)	Rędzina	8,0	„	Jare	I	○	*	****	**	***	***	○	○	○	○	○	○
						II	○	**	***	***	****	***	○	○	***	**	○	****
12	Skorocice	Rędzina gipsowa	6,8	„	Ozime	III	○	****	***	*	****	****	***	****	****	○	○	○
13	Cebówek (pow. Puck)	Gleba gliniasta typu brunatnego	6,5	*Triticum polonicum*	Jare	III	****	○	○	○	○	***	****	○	****	○	○	○
14	„	„	6,5	*Trit. dicoc.*	„	III	**	***	****	**	**	***	**	○	*	*	**	*
15	„	„	6,5	*Triticum monococcum*	„	III	**	***	**	**	*	***	***	○	***	○	○	***
16	„	„	6,5	*Triticum spelta*	„	III	**	**	***	○	**	**	○	*	*	○	○	○
17	„	„	6,5	*Triticum durum* (odm. Puławska twarda)	„	III	***	**	****	****	****	***	**	○	**	○	○	○
18	„	„	6,5	*Triticum durum* (odm. Hela)	„	III	****	****	○	***	***	****	○	****	****	○	○	*

Objaśnienia:

I A Okres krzewienia roślin ozimych na jesień
I B „ „ „ „ „ wiosnę
I „ „ „ jarych „ „
II „ kłoszenia lub kwitnienia
III „ dojrzałości

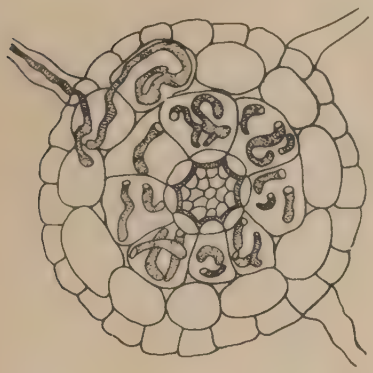
Oznaczenia nasilenia mikoryzy.
○ brak rozwoju
* rozwój słaby
** „ średni
*** „ silny
**** „ bardzo silny

Oznaczenia badanych korzeni:

a. korzenie boczne górnej strefy wiązki korzeniowej
b „ „ środkowej „ „ „
c „ „ dolnej „ „ „
d wtórne korzenie przybyszowe

Oznaczenia poszczególnych preparatów sporządzonych z badanych korzeni:

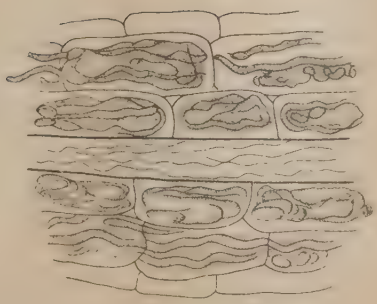
1, 2 preparaty z korzeni w przekroju poprzecznym
3 „ „ „ „ „ podłużnym



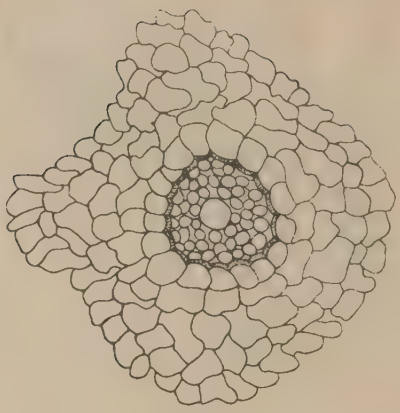
1

2

3

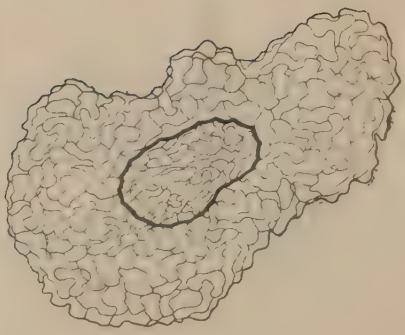


4

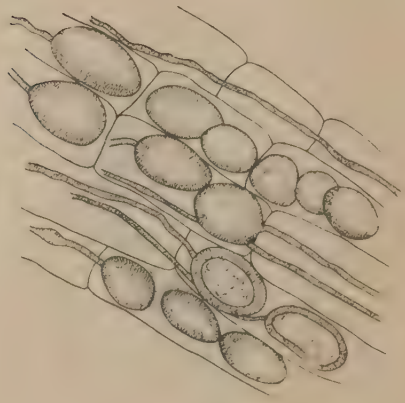


5

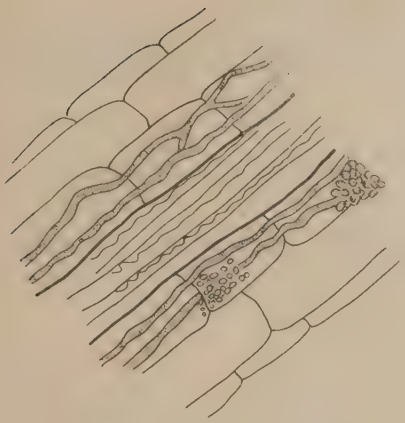
6



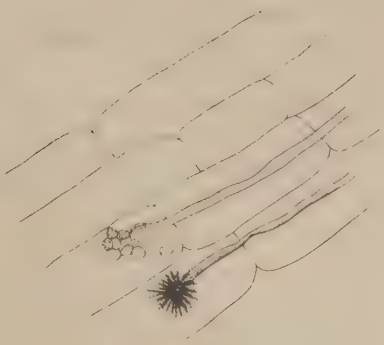
7



8



9



10

Mikoryza w korzeniach pszenicy

1, 3, 5, 6 i 7 — przekroje poprzeczne

2, 4, 8, 9 i 10 — przekroje podłużne

1 i 3 — Wnikanie nitki grzybni przez włośniki

2 — Wnikanie nitki grzyba bezpośrednio przez komórki epidermy nie przekształcone we włośniki

4 — Poprzeczny przekrój korzenia z mikoryzą

5, 6 i 7 — Poprzeczne przekroje zdeformowanych korzeni, pozbawionych mikoryzy

8 — Pęcherzykowate wzdęcia na końcach nitek grzybni

9 — Tworzenie gron na zakończeniach nitek grzybni

10 — Owocowanie grzyba wewnątrz korzenia *Tr. spelta*

Микориза в корнях пшеницы

1, 3, 5, 6 и 7 — поперечные разрезы

2, 4, 8, 9 и 10 — продольные разрезы

1 и 3 — Проникание нитей мицелия через корневые волоски

2 — Проникание нитей гриба непосредственно через клетки эпидермы не переобразованные в корневые волоски

4 — Поперечный разрез корня с микоризой

5, 6 и 7 — Поперечные разрезы деформированных корней, лишенных микоризы

8 — Пузырьчатые вздутия на концах нитей мицелия

9 — Образование гроздей на окончаниях нитей мицелия

10 — Плодоношение гриба внутри корня *Tr. spelta*

Mycorrhiza in the roots of wheat

1, 3, 5, 6 and 7 — cross-sections

2, 4, 8, 9 and 10 — longitudinal-sections

1 and 3 — Penetration of root-hair by the fungus

2 — Penetration of epidermis cell by the fungus

4 — Transverse section of wheat-root with mycorrhiza

5, 6 and 7 — Transverse sections of deformed roots without mycorrhiza

8 — Terminal vesicles of mycelium

9 — Terminal cluster formation in root-fungus

10 — The fructification of the fungus in root-cells.

Acta Microbiologica Polonica Vol. II, No 4

N. Balicka

WPŁYW SZCZEPIENIA AZOTOBAKTEREM NA PLONY ROŚLIN NIEMOTYLKOWYCH

Z Zakładu Uprawy Roli i Roślin Uniwersytetu Wrocławskiego

Wpłynęło dn. 17.II.1953 r.

Szczepienie roślin niemotylkowych azotobakterem ma na celu pobudzenie ich wzrostu i zwiększenie plonów. Przy rozwiązywaniu tego zagadnienia należy zwrócić uwagę na tak zasadnicze momenty, jak stworzenie odpowiedniego środowiska dla rozwoju azotobaktera, doboru roślin, których rizosfera nie hamuje rozwoju azotobaktera (Krasilnikow, 1945) i selekcję aktywnych szczepów azotobaktera. Od tych czynników będzie przypuszczalnie przede wszystkim zależeć efekt zastosowanego zabiegu.

Wyniki dotychczasowych badań nad szczepieniem roślin azotobakterem, przeprowadzonych w ostatnich latach głównie w ZSRR, nie są jednolite. Obok doświadczeń, które dały pozytywne wyniki zarówno pod względem wysokości plonów, jak i ich jakości (Fiodorow, 1949), przytacza się cały szereg takich, w których zastosowanie szczepienia azotobakterem nie dało zwyżek plonów, a nawet wywołało ich zmniejszenie. Np. doświadczenia przeprowadzane w Instytucie Gospodarki Zbożowej (Rubenczik, 1945) wykazały w 30% wypadków brak zwyżek lub spadek plonów roślin zbożowych. Pozytywne wyniki daje szczepienie roślin krzyżowych. Doświadczenia polowe, przeprowadzone przez Dołgoprudską Stację Doświadczalną (1943) z burakami pastewnymi, owsem i lnem oraz wazonowe z jęczmieniem, kukurydzą, ziemniakami i burakami pastewnymi, nie wykazały pozytywnego wpływu szczepienia na plony pomimo odpowiednich warunków klimatyczno-glebowych.

Szełoumowa i Sztucer (1947) otrzymali około 20% zwyżkę plonu prosa pod wpływem szczepienia azotobakterem. W tym samym roku Fiodorow i Tepper (1947) w swoich pracach nad tym zagadnieniem stwierdzili silnie hamujący wpływ wydzielin korzeniowych prosa na rozwój azotobaktera.

Badania radzieckie z ostatnich lat stawiają pod znakiem zapytania racjonalność stosowania szczepionek azotobakterowych pod rośliny jednoroczne ze względu na to, że nie zawsze azot związany przez azotobaktera jest wykorzystywany przez rośliny w tym samym roku (Gelcer, 1949). Doświadczenia przeprowadzone przez Sumską Stację Doświadczalną (1949) nad szczepieniem tymotki dały następujące wyniki: w pierwszym roku nie było żadnego efektu, w drugim plonów nie badano, w trzecim uzyskano dużą zwyżkę zielonej masy, bo o 69% w stosunku do kontroli. W Kamyszyńskiej

Stacji (1949) w próbach z perzem syberyjskim otrzymano zwyżkę plonów roślin szczepionych: w pierwszym roku o 2,3 q, a w drugim — o 9,0 q/ha. Wyniki ostatnich badań zgadzają się w dużym stopniu z wynikami naszych doświadczeń.

BADANIA WŁASNE

Doświadczenia nad zakażaniem roślin niemotylkowych szczepionką azotobakterową w celu zwiększenia ich plonów zostały przeprowadzone w Zakładzie Uprawy Roli i Roślin Uniwersytetu Wrocławskiego, na zlecenie Rady Naukowej przy MR i RR w latach 1948—1950. Badania te składały się z dwu części:

1) doświadczenia wazonowe, wykonane w hali wegetacyjnej w Stacji Doświadczalnej w Swojcu,
2) doświadczenia polowe, wykonane również w Swojcu.

Przed właściwymi doświadczeniami przeprowadzono prace wstępne, mające na celu wyprodukowanie szczepionki, przy czym założeniem było uzyskanie szczepu azotobaktera „rodzimego", tzn. pochodzącego z tych samych warunków siedliskowych, w których znalazły się potem rośliny szczepione. Dlatego też dla wyodrębnienia szczepów azotobaktera pobrano glebę z pola doświadczalnego.

Hodowlę bakterii prowadzono w pożywkach płynnych w temperaturze 28°. Wyodrębniono trzy szczepy azotobaktera o różnym typie kolonii:

1) nr 1 — kolonie lekko sfałdowane, o ciemnobrązowym pigmencie,
2) nr 2 — kolonie gładkie, b. silnie śluzowate, o jasnobrązowym zabarwieniu,
3) nr 3 — kolonie b. drobno pomarszczone, skórzaste, ciemnobrązowe, przechodzące w czerń.

Z tych szczepów przygotowano w 1948 r. szczepionki, używając jako podłoża torfu o odczynie obojętnym z dodatkiem 1% mannitu, 0,02% dwuzasadowego fosforanu potasu i 0,5% węglanu wapnia. Przygotowanie szczepionki trwało 10 dni przy temperaturze 28° i wilgotności podłoża odpowiadającej 50 — 60% jego pojemności wodnej. Gotowa szczepionka zawierała 800 — 1000 milionów komórek w 1 g podłoża.

Rośliny szczepiono przez wymieszanie nasion z silnie nawilgoconą szczepionką torfową lub przez zanurzenie w niej korzonków rozsady.

Oprócz szczepów miejscowych użyto do doświadczeń kilka szczepów dostarczonych nam przez Dział Mikrobiologii Rolniczej w Puławach. Wreszcie dla kontroli użyto również mieszaniny wszystkich wyodrębnionych szczepów miejscowych (w Swojcu). Mieszaninę tę oznaczono jako nr „m".

DOŚWIADCZENIA WAZONOWE

Doświadczenia wazonowe przeprowadzono na następujących roślinach: 1) owies, 2) tymotka, 3) rajgras francuski, 4) rajgras włoski-czechnicki, 5) rajgras oldenburski, 6) gorczyca, 7) rzepak.

Plan doświadczeń w 1948 r. był następujący:

1) O — kontrolne, bez azotu mineralnego i nieszczepione,
2) N — kontrolne, z dodatkiem 0,5 g azotu mineralnego w formie saletry amonowej — na wazon,
3) nr 1 — bez azotu mineralnego, szczepione szczepem nr 1 „Swojec",
4) nr 2 — bez azotu mineralnego, szczepione szczepem nr 2 „Swojec",
5) nr 5 — bez azotu mineralnego, szczepione szczepem nr 5 „Puławy",
6) nr „m" — bez azotu mineralnego, szczepione mieszaniną szczepów miejscowych.

Do wszystkich wazonów dano podstawowe nawożenie potasowo-fosforowe: po 0,3 g P_2O_5 w formie $Ca(H_2PO_4)_2$, 0,5 g K_2O jako KCl i K_2SO_4 w stosunku 1:2 oraz mikroelementy (Fe, Mn, B, Cu, Zn, Mo), pH — około 7. Doświadczenia założono w dwóch seriach. Do pierwszej użyto gleby — mady nadodrzańskiej, zmieszanej z piaskiem w stosunku 3:1, po 7 kg na każdy wazon, do drugiej — samego piasku kwarcowego, w ilości 8 kg na wazon. Wilgotność w czasie okresu wegetacyjnego utrzymywano w glebie na poziomie około 50% pojemności wodnej.

Doświadczenia w 1949 r. zostały przeprowadzone wg tego samego planu, z tą różnicą, że do podstawowego nawożenia potasowo-fosforowego dodano niewielką ilość azotu mineralnego, a mianowicie po 0,1 g N na wazon, jako NH_4NO_3.

W 1950 r. włączono do badań dodatkowo kombinacje z większą ilością szczepów azotobaktera. We wszystkich przeprowadzonych doświadczeniach używano jako podłoża: 1) piasku kwarcowego lub 2) gleby — mady nadodrzańskiej, zmieszanej z piaskiem w stosunku 3:1.

Doświadczenie 1 — Owies

Siany dn. 16.IV.48 wzeszedł 21.IV.48. Wschody równe we wszystkich wazonach. Po miesiącu obserwowano lepszy rozwój roślin na azocie mineralnym. Rośliny kontrolne i szczepione miały wygląd podobny. Kłoszenie było bardzo słabe, wobec czego owies ścięto na zieloną masę dn. 24.V.48.

Tabela I

Plony owsa w g średnio na wazon
Сборы овса в г в среднем на вазон
Yields of oats, in g, average per pot

Kombinacja	na piasku		na madzie z piaskiem	
	zielona masa	sucha masa	zielona masa	sucha masa
O	6,5	1,4	22,6	6,5
N	76,0	24,6	118,1	40,5
Nr 1	10,5	2,9	27,1	8,0
Nr 2	10,7	2,8	25,9	7,9
Nr „m"	10,5	2,9	25,4	7,0
półprz. ufn.	35,5	3,4	55,0	4,8

Jak widać z powyższego zestawienia, różnice pomiędzy plonem roślin kontrolnych „O" i plonami roślin szczepionych są nieistotne, natomiast zwyżka na azocie mineralnym jest stosunkowo duża. W tym doświadczeniu szczepienie owsa azotobakterem wyniku dodatniego nie dało.

Doświadczenie 2 — Tymotka

Zasiana dn. 16.IV.48, wschody 26—27.IV.48. Zróżnicowanie pomiędzy poszczególnymi kombinacjami zachodzi już przy wschodach. Rośliny nawożone azotem mineralnym dają wschody i wzrost najsilniejszy, rośliny szczepione są słabsze, ale jednak wyraźnie lepsze od kontrolnych. Różnice te utrzymują się do czasu kłoszenia i kwitnienia i występują w plonach zielonej i suchej masy.

Trawę ścięto dwukrotnie: pierwszy raz w czasie kwitnienia, a drugi odrost przed zimą i pozostawiono w wazonach na drugi rok celem zbadania działania szczepienia na rozwój roślin w następnym roku. Koszenie pierwsze: na glebie z piaskiem 17.VII.48, na piasku 28.VII.48. Koszenie drugie obu serii: 1.IX.48.

W następnym roku (1949), po dobrym przezimowaniu i przeprowadzeniu koniecznych zabiegów pielęgnacyjnych, dodano azot w ilości 0,4 g w formie saletry amonowej do wazonów w kombinacji nawożonej azotem mineralnym. Do wszystkich innych kombinacji dodano po 0,1 g N na wazon w tej samej postaci celem pobudzenia wegetacji. Ścięto tymotkę dwukrotnie: 2.VIII.49 i 3.IX.49 — w serii na glebie z piaskiem, zaś w serii na samym piasku ze względu na bardzo słaby odrost ścięto tylko jeden raz (3.IX.48). W tabeli II podano sumę obydwu pokosów zebranych w pierwszym roku i oddzielnie pokosy w drugim roku użytkowania.

Tabela II

Plony tymotki w latach 1948 i 1949 w g na wazon

Сборы тимофеевки в 1948 и 1949 гг. в г. на вазон

Yields of timothy-grass, in g, average per pot (1948, 1949)

Kombinacje / pokosy	na piasku			na madzie z piaskiem			
	zielona masa		sucha masa	zielona masa			sucha masa
	1948 I + II	1949 I	1948 I + II	1948 I + II	1949 I	1949 II	1948 I + II
O	4,2	16,7	1,2	12,2	32,4	82,3	2,8
N	38,8	51,2	12,6	43,9	82,1	113,3	15,2
Nr 1	19,6	14,9	6,6	16,3	55,0	104,2	4,2
Nr 2	20,1	18,0	6,6	15,5	51,2	117,8	3,0
Nr „m"	15,9	18,8	5,2	15,6	56,2	129,5	3,7
półprz. ufn.	4,0	2,1	5,3	3,8	1,1	21,3	2,3

W 1949 r. suchej masy nie oznaczono wskutek zniszczenia próbek.

Z zestawienia wynika, że plony roślin szczepionych są wyższe od kontrolnych. W serii na piasku tego rodzaju wynik zanotowano w pierwszym roku po zaszczepieniu, w drugim zaś efekt szczepienia był nikły. W serii na glebie z piaskiem zwyżka plonu pod wpływem szczepienia występuje wyraźniej w drugim roku. Przy ostatnim pokosie plony roślin szczepionych dorównują nawet plonom uzyskanym w kombinacji z azotem mineralnym.

Podobny wynik uzyskano w doświadczeniu powtórzonym w terminie późniejszym w 1948 i 1949 r. Rośliny zasiano 28.VI.48, sprzątnięto w pierwszym roku 26.X.48 i w drugim roku 16.VII.49. Doświadczenie założono tylko na madzie zmieszanej z piaskiem. Dane cyfrowe ujęte są w tabeli III.

Wyniki z doświadczenia 1950 r. przeprowadzonego wg planu z roku poprzedniego nie są całkiem zgodne z uzyskanymi w latach poprzednich. Wprawdzie plony zielonej masy roślin szczepionych są wyższe od kontrolnych, ale różnice w suchej masie leżą w granicach błędu. Ilustruje je tabela III, gdzie podana jest suma dwóch pokosów (z 11.VII i 29.IX.50).

Tabela III

Plony tymotki w g na wazon (1948, 1949, 1950)

Сборы тимофеевки в г на вазон (1948, 1949, 1950)

Yields of timothy-grass, in g, average per pot (1948, 1949, 1950)

Kombinacja	Zielona masa			sucha masa	
	1948	1949	1950	1948	1950
			I + II pokos		I + II pokos
O	32,2	49,0	62,2	7,2	17,7
N	77,5	68,8	66,6	15,4	17,7
Nr 1	30,5	63,5	66,4	7,2	18,1
Nr 2	26,9	49,7	68,3	6,4	18,5
Nr „m"	27,9	63,2	68,8	6,2	18,7
półprz. ufn.	1,9	2,1	2,7	1,9	1,2

Należy stwierdzić, że w wypadku trzykrotnie powtórzonego doświadczenia wazonowego nad szczepieniem tymotki azotobakterem uzyskano w większości serii wynik pozytywny. Plony zielonej i suchej masy roślin szczepionych były wyższe niż plony roślin kontrolnych nieszczepionych i bez dodatku azotu mineralnego. Zwyżka plonów na ogół większa w drugim roku niż w roku pierwszym — plony w niektórych wypadkach dorównywały nawet uzyskanym w kombinacji z azotem mineralnym (patrz tabela II, seria na glebie z piaskiem). Efekt działania poszczególnych szczepów azotobaktera był w różnych seriach zmienny (tab. II i III). W doświadczeniu pierwszym z 1948 r. w serii na piasku początkowo lepiej działały szczepy nr 1 i 2, później nr 2 i „m", zaś w serii na glebie z piaskiem (tab. II) początkowo nr 1, a potem nr 2, i „m". W doświadczeniu drugim (tab. III) plony były wyższe w kombinacjach szczepionych szczepami nr 1 i „m" w porównaniu ze szczepem nr 2. W doświadczeniu trzecim z 1950 r. (tab. III) również nieco lepszy wynik spowodowało szczepienie szczepami nr 1 i „m" aniżeli szczepem nr 2.

Doświadczenie 3 — Rajgras francuski

Zasiany dn. 28.VI.48, wschody 9.VII.48. Różnice pomiędzy poszczególnymi seriami doświadczalnymi zaznaczyły się już w pierwszych stadiach rozwojowych. Rośliny na azocie mineralnym były najmocniejsze, szczepione nieco słabsze, a najsłabsze kontrolne. Sprzętu dokonano w pierwszym roku: 24.VIII — I pokos; drugiego pokosu nie było ze względu na słaby odrost. W drugim roku zrobiono dwa pokosy: 25.VII.49 i 2.IX.49. Plony podane są w tabeli IV.

Widoczna jest wyraźna dodatnia reakcja rajgrasu francuskiego na szczepienie azotobakterem, zwłaszcza na roślinach dwuletnich. Występują też pewne różnice w działaniu różnych szczepów azotobaktera, jednak żaden z nich nie uzyskał zdecydowanej przewagi nad innymi. Dziwny wydaje się fakt, że plony 2 pokosu 1949 roku (tab. IV) uzyskane na madzie z piaskiem są równe albo nawet (w 3 kombinacjach) niższe niż w serii na piasku. Przypuszczalnie dałoby się to wytłumaczyć nieodpowiednimi własnościami fizycznymi mady w drugim roku użytkowania roślin w wazonach (za mała przewiewność). Na piasku natomiast tego czynnika nie było, a znaczna ilość

obumarłych i rozkładających się korzeni spowodowała pewien wzrost plonów.

To samo doświadczenie powtórzone w 1949 r. dało wyniki odmienne — nie uzyskano zwyżek plonów pod wpływem szczepienia. Poza tym odrost trawy po 1 pokosie był ogromnie słaby. Dane cyfrowe są uwidocznione w tabeli IV.

Tabela IV

Plony rajgrasu francuskiego w g na wazon (1948—1949) — Doświadczenie I

Сборы французского райграса в г на вазон (1948 — 1949)

Yields of French rye-grass, in g, average per pot (1948—1949)

kombinacje / pokosy	na piasku				na madzie z piaskiem			
	zielona masa			sucha masa	zielona masa			sucha masa
	1948	1949		1948	1948	1949		1948
	I	I	II	I	I	I	II	I
O	29,1	30,4	71,0	5,9	27,1	32,8	67,0	6,9
N	44,3	59,0	85,0	12,0	53,5	69,9	85,6	15,0
Nr 1	38,8	35,1	82,9	8,9	45,2	40,1	90,6	11,6
Nr 2	31,9	42,7	94,4	7,1	41,2	44,4	87,1	10,8
Nr „m"	22,4	42,2	92,1	7,3	31,3	54,0	85,8	8,6
półprz. ufn.	8,1	6,1	11,61	1,3	8,3	7,0	10,0	1,7

Doświadczenie II (1949 r.)

kombinacje / pokosy	na piasku				na madzie z piaskiem			
	zielona masa		sucha masa		zielona masa		sucha masa	
	I	II	I	II	I	II	I	II
O	16,6	3,6	5,9	1,4	43,2	9,4	12,1	3,5
N	44,1	7,2	13,5	3,5	63,5	14,2	16,7	6,1
Nr 1	16,2	3,1	5,3	1,5	39,0	11,0	11,9	4,1
Nr 2	13,2	2,4	4,9	1,0	40,0	11,7	12,1	4,2
Nr 5 „Puławy"	13,5	2,7	4,7	1,2	35,4	11,4	10,1	4,1
Nr „m"	13,8	2,1	5,2	1,1	40,9	11,1	12,6	3,0
półprz. ufn.	8,0	1,0	2,1	0,5	6,2	1,9	2,7	0,7

Doświadczenie 4 — Rajgras włoski czechnicki

Zasiany dn. 26.VI.48, wschody 5.VII.48. We wczesnym stadium poza wyraźnie najlepszym rozwojem na azocie mineralnym nie widać różnic między poszczególnymi kombinacjami. Sprzęt roślin jednorocznych: 4.VIII.48 — I pokos i 1.IX.48 — II pokos. Sprzęt roślin dwuletnich: 27.VII.49 — I pokos i 3.IX.49 — II pokos. Wyniki zebrano w tabeli V.

Tabela V

Plony rajgrasu włoskiego czechnickiego w g na wazon (1948—1949)
Сборы итальянского, чехницкого райграса в г на вазон (1948 — 1949)
Yields of Italian „Czechnicki" rye-grass, in g, average per pot (1948—1949)

Kombinacje / pokosy	na piasku				na madzie z piaskiem			
	zielona masa			sucha masa	zielona masa			sucha masa
	1948	1949		1948	1948	1949		1948
	I+II	I	II	I+II	I+II	I	II	I+2
O	21,9	35,0	99,3	8,7	43,6	42,0	138,9	11,3
N	140,5	50,1	141,6	34,1	162,6	63,8	185,8	34,2
Nr 1	24,4	36,1	104,5	7,3	43,5	41,0	151,7	10,6
Nr 5 „Puławy"	24,7	36,9	107,4	7,2	46,3	44,6	184,3	11,1
Nr „m"	20,1	41,7	93,0	5,9	43,8	43,5	170,3	11,2
półprz. ufn.	9,4	3,0	4,1	1,2	3,8	5,0	19,9	1,7

W 1949 r. suchej masy nie oznaczono, wskutek zniszczenia próbek.

Uzyskane wyniki wskazują na to, że szczepienie azotobakterem wywarło dodatni wpływ na plony rajgrasu włoskiego, ale dopiero w późniejszym okresie rozwoju. Zwyżki plonów obserwuje się mianowicie tylko przy drugim pokosie roślin dwuletnich na skutek zabiegu szczepienia szczepami nr 1 i nr 5, natomiast w kombinacjach nr „m" w serii na piasku wystąpiła niespodziewana obniżka. Najlepszy wynik dał szczep nr 5 „Puławy".

Doświadczenie 6 — Rajgras oldenburski

Rośliny zaszczepiono i posadzono w formie rozsady dn. 12.V.50. Rozwój roślin szczepionych i na azocie mineralnym był na ogół lepszy niż kontrolnych. Pierwszy raz ścięto rośliny 11.VII.50, po raz drugi — 29.IX.50. W tabeli VI podano sumę obydwu pokosów.

Tabela VI

Plony rajgrasu oldenburskiego i zielonej masy gorczycy w g na wazon (1949—1950)
Сборы ольденбургского райграса и зеленой массы горчицы в г на вазон (1949 — 1950)
Yields of Oldenburgian rye-grass and of white mustard, in g, average per pot (1949—1950)

Kombinacje	rajgras oldenburski		gorczyca	
	na madzie z piaskiem		zielona masa	
	zielona masa	sucha masa	na piasku	na madzie z piaskiem
O	71,0	20,7	5,6	11,6
N	85,8	25,7	20,6	27,1
Nr 1	74,1	21,1	8,3	30,1
Nr 2	84,6	24,3	7,7	25,6
Nr „m"	81,4	23,8	6,1	24,5
półprz. ufn.	7,0	1,3	5,6	4,4

Na podstawie powyższych danych wnioskować by można o dodatnim wpływie szczepienia azotobakterem na plon rajgrasu oldenburskiego, przy czym najbardziej efektowny okazał się w tym wypadku szczep nr 2.

Doświadczenie 7 — Gorczyca

Gorczycę zasiano dn. 2.VI.49, wschody 8.VI.49. Ze względu na słaby wzrost gorczyca została ścięta na zieloną masę. Wyniki podano w tabeli VI. W serii na piasku zwyżki pod wpływem szczepienia są nieistotne, natomiast w serii na glebie z piaskiem szczepienie dało przeszło dwukrotnie wyższe plony w porównaniu z kontrolnymi. Przy zastosowaniu szczepu nr 1 zwyżka była największa.

Doświadczenie 8 — Rzepak

Rzepak zasiano 25.IV.50. W czasie okresu wegetacyjnego obserwowano lepszy rozwój roślin szczepionych w porównaniu z kontrolnymi. Rośliny w kombinacji z azotem mineralnym nie różniły się lepszym wyglądem od szczepionych. Zbiór rzepaku przeprowadzono 26.VII.50. Wyniki są zebrane w tabeli VII.

Tabela VII

Plon rzepaku w g na wazon (1950)

Сбор рапса в г на вазон (1950)

Yields of rape, in g, average per pot (1950)

Kombinacja	na madzie z piaskiem			
	zielona masa	sucha masa	ziarno	długość roślin w cm
O	31,8	5,1	1,1	44,8
N	53,2	7,9	2,7	48,2
Nr 1	44,2	7,1	2,4	48,0
Nr 2	45,3	6.8	1,9	47,1
Nr 12 „Puławy“	49,1	7,2	2,4	47,3
Nr 15 „	46,9	7,2	1,7	44,9
Nr 21 „	50,6	7,9	2,7	49,1
Nr „m“	49,8	7,5	1,9	46,0
półprz. ufn.	5,7	0,5	0,6	1,5

Szczepienie rzepaku azotobakterem dało dodatni efekt — wzrósł plon zielonej i suchej masy oraz ziarna; również wzrost roślin był silniejszy. Najbardziej aktywnym szczepem okazał się nr 21 pochodzący z Puław.

DOŚWIADCZENIA POLOWE

Szczepionki przygotowano, jak opisano wyżej; tak samo też jak poprzednio szczepiono nasiona i rozsadę. Doświadczenia założono metodą bloków losowych. Ilość powtórzeń — 6. Wielkość poletek 5 m². Nawożenie: superfosfat w stosunku 300 kg/ha, sól potasowa 40% w stosunku 150 kg/ha, zaś w kombinacji „N“ (poletka nawożone azotem mineralnym) dodatkowo 150 kg/ha siarczanu amonowego.

W roku 1948 założono doświadczenia na stanowisku po mieszance gorzowskiej na glebie typu mady średniej: pH gleby około 6,9. Do doświadczenia użyto następujących roślin: 1) owies, 2) tymotka, 3) pomidory. Owies wysiano 24.IV.48. Zebrano 7.VIII.48.

Tymotkę wysiano 24.IV.48, zebrano 16.VIII.48. Pomidory odmiany „Pieger" wysadzono 10.V.48. Uzyskane wyniki podano w tabeli VIII.

Tabela VIII

Plony owsa, tymotki i pomidorów w kg z poletka (1948)

Сборы овса, тимофеевки и помидоров в кг с опытной делянки (1948)

Yields of oats, timothy-grass and of tomatos, in kg, average per the field (1948)

Kombinacje	owies				tymotka	pomidory
	plon ogólny	ziarno	słoma	plewy	zielona masa	plon
O	8,0	2,9	4,2	0,8	5,2	22,7
N	8,9	3,4	4,7	0,6	6,4	23,5
Nr 1	8,3	3,2	4,4	0,7	5,6	24,8
Nr 2	8,0	3,0	4,2	0,7	5,5	24,8
Nr „m"	8,0	3,1	4,1	0,8	4,5	19,4
półprz. ufn.	1,2	1,1	1,1	0,3	1,4	5,2

W doświadczeniach tych nie uzyskano istotnej zwyżki plonów na skutek szczepienia azotobakterem. Brak reakcji na nawożenie azotem mineralnym tłumaczyć by można tym, że stanowisko po mieszance motylkowo-trawiastej zapewniło dostateczną ilość azotu w glebie na wszystkich poletkach doświadczalnych.

W 1949 r. doświadczenie zostało powtórzone na innym polu, na lżejszej glebie ale również typu mady. Przedplonem był ogród warzywny. Doświadczenie założono wg tego samego planu i tą samą metodą, co poprzednio, tylko z innymi gatunkami roślin tymotka, rajgras francuski i gorczyca. Tymotkę i rajgras francuski wysadzono jako ozsadę dn. 23.V. i 24.VI.49 r. Sprzęt: I pokos — 14 i 15.VII.49, drugi pokos — 8 i 9.IX.49 r. Gorczycę wysiano dn. 7.V.49. Sprzęt — 13.VIII.49. Tymotkę i rajgras pozostawiono na drugi rok i w 1950 sprzątnięto jako rośliny dwuletnie.

W tabelach IX i X przytoczono wyniki.

Tabela IX

Plon tymotki i rajgrasu francuskiego w kg z poletka (1949—1950)

Сбор тимофеевки и французского райграса в кг с опытной делянки (1949 — 1950)

Yield of timothy-grass and French rye-grass, in kg, average per the field (1949–1950)

Kombinacje	tymotka						rajgras francuski					
	zielona masa			sucha masa			zielona masa			sucha masa		
	1949		1950	1949		1950	1949		1950	1949		1950
pokosy:	I	II	I	I	II	I	I	II	I	I	II	I
O	2,0	2,7	4,8	0,4	0,6	0,5	2,9	4,6	6,5	0,7	0,9	0,5
N	2,3	2,5	4,8	0,4	0,8	0,5	2,9	3,9	6,8	0,7	1,0	0,5
Nr 1	2,7	2,8	4,8	0,6	0,6	0,5	2,9	3,7	6,7	0,8	0,9	0,5
Nr 2	2,6	3,1	5,0	0,6	0,7	0,5	3,0	4,4	7,6	0,8	0,9	0,5
Nr „m"	2,2	2,5	5,7	0,5	0,7	0,5	3,1	3,7	6,1	0,7	0,9	0,5
półprz. ufn.	0,6	2,2	0,5	0,7	0,2	0,03	0,6	1,1	0,4	0,2	0,1	0,02

Tabela X

Plon gorczycy w kg z poletka (1949)

Сбор горчицы в кг с опытной делянки (1949)

Yields of white mustard, in kg, average per the field (1949)

Kombinacja	Plon ogólny	Plon ziarna z plewami	Plon czystego ziarna
O	2,8	1,9	0,4
N	3,3	2,0	0,5
Nr 1	2,9	1,9	0,5
Nr 2	2,9	1,6	0,5
Nr „m“	2,6	1,6	0,5
półprz. ufn.	1,6	1,0	0,2

W roku 1949 zatem również nie otrzymano pozytywnych wyników szczepienia roślin niemotylkowych azotobakterem w warunkach polowych. Nie uzyskano też podwyższenia plonów pod wpływem nawożenia azotowego. Przyczyny można szukać w tym, że pole było przez kilka lat użytkowane jako ogród, gdzie stosowano silne nawożenie organiczne i mineralne. Natomiast pewien efekt wystąpił w drugim roku wegetacji traw pomimo tego, że nie stosowano ani dodatkowego szczepienia, ani nawożenia azotem mineralnym. U tymotki szczep nr 2 i „m“ wywołały niewielką zwyżkę zielonej masy, która dla kombinacji „m“ jest istotna. U rajgrasu francuskiego istotną zwyżkę zielonej masy dał szczep nr 2.

WNIOSKI

Reasumując wyniki trzyletnich doświadczeń wazonowych i polowych nad szczepieniem roślin niemotylkowych azotobakterem, możemy stwierdzić:

1. Wyniki doświadczeń wazonowych i polowych niezupełnie odpowiadają sobie. W pierwszych uzyskiwano wyniki przeważnie dodatnie, w drugich zaś efekt szczepienia uwidocznił się stosunkowo słabo, nawet przy roślinach, które w warunkach wazonowych reagowały wyraźnie.
2. Nie wszystkie rośliny reagowały jednakowo na szczepienie azotobakterem. W warunkach doświadczeń wazonowych na ogół dodatnie wyniki szczepienia wykazały: tymotka, rajgras francuski, rajgras włoski, oldenburski, gorczyca i rzepak. Szczepienie owsa nie dało zwyżki plonów.
3. Reakcja na szczepienie wystąpiła u niektórych roślin wyraźniej w drugim roku ich użytkowania. Do takich roślin należały tymotka, rajgras francuski i rajgras włoski, przy czym plony ich dorównały, a nawet w jednym wypadku przewyższały plony roślin nawożonych azotem mineralnym.
4. Porównując działanie różnych szczepów na plony roślin, nie stwierdzono zdecydowanej przewagi żadnego z nich. W poszczególnych seriach, a nawet w tych samych seriach, ale w różnych okresach dobre wyniki dawały różne szczepy.
5. W warunkach polowych szczepienie azotobakterem w pierwszym roku nie wywarło żadnego wpływu na rozwój i plony roślin. Niewielkie zwyżki wystąpiły natomiast w plonach roślin dwuletnich.

Н. Валицка

ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕНИЯ АЗОТОБАКТЕРОМ НЕБОБОВЫХ РАСТЕНИЙ НА ИХ УРОЖАЙНОСТЬ

Резюме

В 1948—50 годах проведено ряд полевых и лабораторных опытов для исследования влияния заражения небобовых растений культурами азотобактера на их урожайность. Для этой цели использовано несколько штаммов азотобактера, полученных из почвы опытных делянок, а также один штамм присланный из Отд. Сель. Хоз. Микробиологии из Пулав.

Результаты опытов следующие:

1. Повышение урожая под влиянием заражения зависело от вида растения и способа проведения опыта. В вазонных опытах у тимофеевки и французского райграса наблюдался определенный прирост урожая. У райграсов: итальянского, ольденбургского, английского, у горчицы и рапса этот прирост был менее определенный, а у овса вообще не наблюдался.

2. На второй год после инокуляции, урожайность некоторых двухлетних растений, как тимофеевки, французского и итальянского райграсов еще более возрасла по сравнению с контрольными, так что их урожай сравнялся с урожаями полученными в вазонах, где подавался минеральный азот.

3. В условиях полевого опыта, во всех случаях (тимофеевка, овес, французский райграс, горчица и помидоры) урожай растений зараженных азотобактером не отличался от контрольных. Только двухлетние растения тимофеевки и французского райграса дали некоторое повышение урожая под влиянием бактеризации.

N. Balicka

THE INFLUENCE OF INOCULATION WITH *AZOTOBACTER* ON THE YIELDS OF NON-LEGUMINOUS PLANTS

Summary

The investigations on the influence of inoculation upon non-leguminous plants were carried out during years 1948—1950. The tested plants were inoculated with strains of *Azotobacter* isolated from local soils and with a strain obtained from Department of Agricultural Microbiology in Puławy.

The results of many pot- and field-experiments were as follows:

1. In pot-experiments the inoculation with *Azotobacter* affected only the growth and yield of timothy-grass. Some but not very distinct effect of inoculation was also noted in French, Italian, Oldenburgian and English rye-grass, in white mustard and in rape. The oats was unaffected.

2. It was showed that the reactivity of the plants on the inoculation was sometimes clearly evident only during the second year after inoculation. The increases in the yield of timothy-grass, French and Italian rye-grass in the second year after inoculation were larger than in the year of inoculation. Increase in the yield was as great as after mineral nitrogenous manure.

3. In the field-experiments no influence of inoculation during the first year was noted. These experiments were carried out on timothy-grass, French rye-grass, oats, mustard and tomato. During the second year after the inoculation little increase in the yield of timothy and French rye-grass was observed.

LITERATURA

1. Fiodorow M. P. i Tepper E. Z., 1947: Ob usłowijach opredielajuszczich prożiwajemost' azotobaktera w rizosfierie siel-choz. rastienij w poczwie, *Mikrobiołogia,* **16**:498.
2. Fiodorow M. P., 1949: Mikrobiołogia. Sielchozgiz, Moskwa.
3. Gelcer F., 1949: Znaczenije baktierizacii w powyszenii urożajnosti mnogoletnich traw. *Sow. Agronomija,* 7:59.
4. Krasilnikow N. A., 1945: Mikrobiołogiczeskije osnowy baktierialnych udobrienij. Akad. Nauk ZSSR, Leningrad.
5. Rubenczik L. I., 1945: Wykorystannia mikrobiw dla pidwyższenia wrożajnosti sil.-hosp.-rosłyn. Akad Nauk USSR, Kijów.
6. Szełoumowa A. M. i Sztucer J. M., 1947: Azotobakter i korniewaja sistiema rastienij. *Sow. Agronomija,* 5:72.

Acta Microbiologica Polonica Vol. II, No 4

A. Kozłowska

Z BIOLOGII WIRUSÓW ROŚLINNYCH

Wykład wygłoszony na Zjeździe Mikrobiologów Polskich w Łodzi dn. 8 — 11 listopada 1952 roku

Z Zakładu Botaniki, Wydz. Roln. U. J. w Krakowie

Wpłynęło dn. 25.IV.53 r.

Wielkie zdobycze techniki badawczej, a przede wszystkim ultracentryfuga i mikroskop elektronowy, stały się źródłem wspaniałych osiągnięć ostatniej doby, prowadzących do coraz to bardziej wnikliwego poznania wyodrębnionego na drodze chemicznej z żywego ustroju — wirusowego białka. Mnożą się przed naszymi oczyma, ze wszystkich pracowni świata napływające fotografie, uzyskane w elektronowych mikroskopach, krystalicznych wirusowych molekuł, mierzonych milionowymi częściami milimetra. Z krystaliczną ich budową związana jest niezmienność ich kształtów i wielkości. W kształcie wydłużonych igieł zbudowane pojedyncze krystaliczne jednostki mozaiki tytoniowej mierzą zawsze niezmiennie 280 milimikronów długości i 15 milimikronów szerokości. Nie ma tu najmniejszych odchyleń ani zmienności — właściwość nie spotykana nigdy nawet u najniżej uorganizowanych organizmów żywych. Krystaliczne jednostki wirusowe działają zakaźnie tylko wtedy, gdy nie są uszkodzone. Gdy w czasie czyszczenia w ultracentryfudze przy 40.000 obrotach zostają częściowo połamane, zdolność ich zakaźna słabnie. Podobnie w silnie alkalicznym odczynie, przy pH = 11, ulegając rozpuszczeniu, tracą one całkowicie swoją zakaźną aktywność. Białko wirusowe wytrącane jest z roślinnego soku za pomocą siarczanu amonu. Krystaliczne jednostki wirusowe zlepiają się wtedy ze sobą w długie, nieraz gołym okiem widoczne, łańcuchy. Tak otrzymany wyciąg zakaża słabiej niż świeży, z zielonych części rośliny otrzymany sok. Kryształy wirusowe są bowiem w świeżym soku roślinnym nienaruszone.

Drugą naczelną cechą białek wirusowych roślinnych w odróżnieniu od zwierzęcych jest zasadniczo niezmiernie prosta ich chemiczna struktura. Całkowicie oczyszczone, wyodrębnione z komórkowej treści, wirusowe kryształy są nukleoproteidami, pozbawionymi składników związanych z przemianą materii w organizmach żywych, jakimi są węglowodany a nadewszystko enzymy. Nagie, wydobyte z komórki drobiny wirusowego białka nie wykazują i wykazywać nie mogą *in vitro* żadnych życiowych zjawisk.

Najbardziej wnikliwa chemiczna analiza, która doprowadziła do poznania składu procentowego aminokwasów i odtworzyła układ strukturalny całej olbrzymiej w pojęciu chemicznym skomplikowanej drobiny nukleopro-

teidu wirusowego, dokonana w probówce, poza ustaleniem stałości składu i budowy pojedynczych wirusów i ich ras, nie mogła w swoich dociekaniach wyjść poza zagadnienia związane ze strukturą chemiczną nieożywionych białkowych substancji.

Te wspaniałe niewątpliwie z punktu widzenia chemicznego osiągnięcia nie prowadzą jednak do zrozumienia najbardziej istotnych właściwości chorób wirusowych — jakie dochodzą do głosu tylko wewnątrz żywej komórki — ich zdolności mnożenia się i zmieniających się tam właściwości.

Molekularny kryształek, odpowiadający jednostce wirusowej o niezmiennym, ustalonym składzie i wielkości, dostawszy się do żywej komórkowej treści zostaje natychmiast włączony w proces dokonywających się tam przemian. Sama w sobie nieczynna, martwa substancja białkowa spotyka partnerów: enzymy proteolityczne i składniki budulcowe, ciągle na nowo gromadzące się w soku komórkowym i wśród protoplazmatycznego rusztowania. Kryształów wirusowych, nie różniących się niczym w swym wyglądzie od tych, jakimi operuje chemik w swej probówce, przybywa wewnątrz komórki z zawrotną szybkością. Mikroskop elektronowy dzięki zdumiewającej technice wtargnął do wnętrza zarażonej komórki, ukazując naszym oczom kryształki mozaiki tytoniowej niby cienkie igły czasadzające chloroplasty i całą protoplazmatyczną treść. Fosfor w formie izotopowej, podawany w tym czasie roślinie i pobierany przez komórkę, odnajduje się od razu w kwasie nukleinowym wirusowych kryształów. Mnożący się wirus staje się częścią składową komórki, wydobyty zaś z jej wnętrza, traci najbardziej istotne swoje właściwości.

W zjawisku noszącym miano „wirusowej choroby" dwa sprzęgnięte ze sobą czynniki odgrywają równie ważną rolę. Są nimi drobina zarażającego nukleoproteidu i cały złożony kompleks wszystkich czynników warunkujących syntezy białkowe w roślinnej komórce. Wykluczone jest oddzielenie środowiska, jakim dla chorób wirusowych jest komórkowa treść, od samego czynnika infekującego, jakim jest obca, wprowadzona do komórki drobina białkowa.

Z chorobowymi procesami dokonywającymi się wewnątrz komórek związane jest reagowanie objawowe całego organizmu roślinnego.

Spośród dobrze poznanych i opisanych 90 roślinnych chorób wirusowych przykładowo rozpatrzymy dwa bardzo często spotykane schorzenia, występujące na ziemniakach: smugowatość — wirus Y i utajony wirus ziemniaków — X, by na ich przykładzie przedstawić szereg ogólnych biologicznych zjawisk.

Oba te schorzenia przedstawiają zasadniczo dwa odrębne typy odnośnie do najbardziej istotnej właściwości, jaką jest sposób zakażenia, przenoszenia się choroby z jednego osobnika na drugi. Smugowatość jest przenoszona przez mszyce i drogą mechanicznego potarcia. Wirusa X owady w ogóle nie przenoszą, zakażenie może się dokonać wyłącznie na drodze mechanicznego kontaktu.

Zajmiemy się najpierw wirusem Y, smugowatością. Tak licznie wyodrębnione wirusy roślinne ujawniają na roślinach-gospodarzach nieliczne powtarzające się te same zewnętrzne objawy. Można je ująć w pięć zasadniczych typów; 1) mozaika wywołana rozpadem chlorofilu, 2) nekroza; zamieranie komórek i tkanek, 3) zniekształcenie i zahamowanie wzrostu całej rośliny, 4) zmiany anatomiczne w przewodzącej tkance sitowej, wreszcie 5) bujanie tkanki w formie narośli, tumorów.

Zdarza się, że cały szereg odrębnych wirusów daje te same objawy, odwrotnie — jeden i ten sam wirus może wywołać na roślinie-gospodarzu szereg niepodobnych do siebie symptomów zewnętrznych. Smugowatość odznacza się tą właściwością.

Typowym, niezmiernie łatwo dającym się zaobserwować objawem smugowatości jest zamieranie komórek wzdłuż nerwów liści, dające po spodniej ich stronie charakterystyczne czarne smugi z jednoczesnym zasychaniem liściowych wierzchołków. Wytwarzająca się nekroza w wiązkach i tkance miękiszowej liści przechodzi na ogonek, powodując w późniejszym stadium opadanie i zasychanie liści. Najczęściej zdarza się, że na jednej i tej samej roślinie dolne liście wykazują typową smugowatość, zamierają i opadają, gdy górne, młodsze mają na liściach jedynie objawy mozaiki. Bardzo często na drugi rok z bulw tak porażonego krzaka wyrastają pędy, które nie wykazują śladów nekrozy, a tylko mozaikę wraz ze skędzierzawieniem, zniekształceniem liści.

Istnieje ogromna różnorodność w sposobie reagowania poszczególnych odmian ziemniaka zakażanych tą samą smugowatością. Na liściach najczęściej zjawia się nekroza, ale wystąpić też może tylko delikatna mozaika bądź łagodne skędzierzawienie liści. Jeżeli jednak sok pochodzący z liści o tak różnorodnych objawach przeszczepimy na młode siewki tytoniu, to wystąpią na tej roślinie zawsze te same niezmiernie charakterystyczne zjaśnienia nerwów liści, które występują w formie jasnej, gęstej siateczki. Reagowanie rośliny testowej w jednakowy zawsze sposób dowodzi, że mamy tu do czynienia zawsze z tym samym czynnikiem zakaźnym, a występujące na ziemniakach objawowe różnice leżą raczej we wrodzonych bądź po przebytym zakażeniu nabytych, odmiennych właściwościach treści komórkowej roślin-gospodarzy.

Rozszerzanie się w przyrodzie smugowatości związane jest z owadami z gatunków mszyc, które są roznosicielami choroby. Od 1947 roku prowadzone w moim zakładzie doświadczenia i obserwacje rzucają nieco światła na okresy nasilenia i zanikania infekcji oraz roli, jaką w tym spełnia z jednej strony czynnik zakaźny, z drugiej strony warunki, w jakich znajdują się zaatakowane rośliny.

Ziemniak, związany w swej ojczyźnie z oceanicznym i górskim klimatem, jest mezofytem, u którego najważniejsze procesy życiowe: oddychanie, asymilacja, a nade wszystko bilans wodny, pobieranie i transpirowanie wody przebiegają najkorzystniej w klimacie wilgotnym przy niezbyt wysokich temperaturach zarówno dnia, jak i nocy. W klimacie kontynentalnym, o charakterze „stepowym", odznaczającym się wysoką zdolnością ewaporacyjną powietrza, a stosunkowo niskimi opadami przy jednocześnie wysokiej temperaturze dnia i nocy, ziemniak przeżywa okres głodu. Jego bilans wodny zostaje zachwiany, pobieranie wody przez korzenie nie zaspokaja potrzeb silnie transpirujących liści, oddychanie w czasie ciepłych nocy nie pozwala na dostateczną produkcję węglowodanów. Rośliny nie mogąc wyprodukować dostatecznej ilości suchej masy karleją. Jeśli, odwrotnie, ziemniak znajdzie się w warunkach krańcowo przeciwnych, przy nadmiarze opadów szczególnie w pierwszych miesiącach swego rozwoju, w maju i czerwcu, rozwój jego zostaje również, na skutek prawdopodobnie braku dni słonecznych zahamowany i roślina nie dochodzi do normalnego rozwoju.

Badania nad ziemniakiem prowadzone były na poletkach doświadczalnych w Krakowie i Zakopanem od 1947 do 1952 roku. W ogólnym swym cha-

rakterze klimat Krakowa w miesiącach letnich wykazywał przez większą ilość dni wskaźnik parowania wyższy od sumy opadów, gdy natomiast w Zakopanem opady przewyższały znacznie zdolność ewaporacyjną powietrza. W ciągu tych 6 lat zarówno na niżu, jak i w górach klimat w poszczególnych okresach wegetacyjnych ulegał silnym wahaniom. W Krakowie lata 1947, 1950 i 1951 wybijały się jako wybitnie suche i gorące, gdy tymczasem lata 1948, 1949 i 1952 były latami stosunkowo wilgotnymi i zimnymi. W Zakopanem, gdzie panują stosunki krańcowo różne, jedynie rok 1950 wyróżnił się jako stosunkowo suchszy.

Od zimy 1946—47 roku corocznie sprowadzane były do Krakowa bulwy ziemniaków z pomorskich stacji doświadczalnych, które na Pomorzu nie wykazywały objawów chorób wirusowych i gdzie rośliny dochodziły do optymalnego rozwoju. Każda sprowadzona bulwa dała początek roślinie, której rozwój i stan zdrowotny dzięki wegetatywnemu rozmnażaniu bulwami był badany w Krakowie, a częściowo i w Zakopanem przez wszystkie lata następne. Poza objawowo dającymi się ocenić chorobami wirusowymi rośliny przejawiały zahamowanie rozwoju bez zdecydowanych chorobowych symptomów. We wszystkich pokoleniach ziemniaków sprowadzanych z Pomorza procent bezobjawowo zdegenerowanych roślin dochodził do najwyższego nasilenia (60%) w latach suchych i gorących.

Spójrzmy, jak na tle mniejszych lub bardzo silnych zahamowań wegetatywnego rozwoju rośliny odbywał się rozwój choroby zakaźnej, jaką jest smugowatość — wirus Y.

W zimie 1946—47 sprowadzone zostały do Krakowa z pomorskich stacji doświadczalnych bulwy 40 wyselekcjonowanych rodów ziemniaków, które na tamtejszym terenie nie wykazywały objawów chorób wirusowych. Na wiosnę 1947 roku na poletkach doświadczalnych w Krakowie wysadzonych zostało z każdego rodu po 15 bulw. W warunkach miejskich, na skutek stałych silnych nalotów mszyc, od czerwca do września ziemniaki narażone były na zakażenie smugowatością, wirusem Y. Wiosna i lato 1947 roku były szczególnie korzystne dla rozwoju mszyc, wystąpiły też one w nasileniu tak wielkim, jakie się nie powtórzyło w czasie lat następnych do 1952 roku. Mimo to przez cały okres wegetacyjny ziemniaki nie wykazywały żadnych zdecydowanych objawów chorób wirusowych. Jedynie w tym wybitnie suchym roku 24% badanych krzaków było nieco zahamowanych we wzroście i rozwoju

W 1948 roku na wiosnę bulwy spod zbadanych pojedynczych krzaków, należące do 23 rodów, podzielone zostały na połówki. Jedne posadzone zostały w dalszym ciągu w Krakowie, ich odpowiedniki zaś wśród lasu na Kozińcu w Zakopanem. Od tego czasu aż do chwili obecnej przez lat 5 prowadzone były równolegle obserwacje w tych tak różnych pod względem warunków klimatycznych terenach. Corocznie obserwowane i badane były krzaki pochodzące z bulw odpowiednich krzaków macierzystych.

Przy sadzeniu ziemniaków w Zakopanem w sposób naturalny wykluczony został w warunkach krakowskich stale działający czynnik infekcyjny, jakim w stosunku do smugowatości są mszyce.

Obserwacje na wiosnę i w lecie na obu terenach w 1948 roku dały frapujące wyniki. W Zakopanem 10 rodów dało od razu po wzejściu typowe nekrotyczne objawy smugowatości. W stosunku do ilości przebadanych krza-

ków stanowiły one 49%. W Krakowie natomiast odpowiednie krzaki wykazały jedynie bardzo silne zahamowanie wzrostu i rozwoju. Objawy smugowatości wraz z kędzierzawką wystąpiły na nich w późniejszym okresie rozwojowym, w lipcu. Pozostałe 13 rodów przejawiły w Zakopanem również objawy smugowatości, wystąpiły one tylko później, dopiero w lipcu, we wrześniu bardzo szybko zatracając je niemal całkowicie. W Krakowie odpowiednie krzaki przejawiły tylko zahamowanie rozwoju.

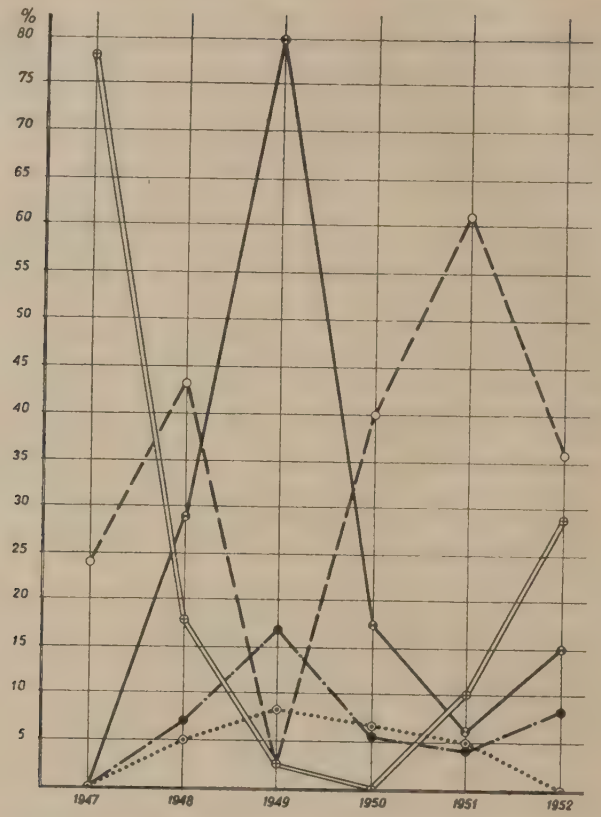
Na ogół poza różnicami czasowymi w zjawianiu się symptomów procent roślin opanowanych smugowatością był w lecie 1948 niemal ten sam w Krakowie i Zakopanem. W porównaniu z Zakopanem w Krakowie podniósł się wydatnie procent roślin zahamowanych w rozwoju, a w Zakopanem zwiększyła się ilość krzaków porażonych kędzierzawką.

Poletko na Kozińcu otoczone lasem nie było wystawione na inwazje mszyc. Smugowatość, która w pierwszym roku wystąpiła tam na ziemniakach w tak dużym procencie, tkwić już musiała w połówkach bulw przywiezionych z Krakowa. Chociaż, jak to już zaznaczono wyżej, ziemniaki w Krakowie w 1947 roku, mimo że były tak silnie atakowane mszycami, nie miały przez cały okres wegetacyjny objawów smugowatości, niemniej jednak musiały być porażone tą chorobą, skoro wystąpiła ona w typowych objawach w roku następnym zaraz po wzejściu roślin na Kozińcu, gdzie czynnik infekcyjny był odcięty. O porażeniu smugowatością zadecydował zatem 1947 rok, dla rozwoju mszyc szczególnie korzystny.

Załączone krzywe przedstawiają dalsze losy rozwoju choroby w Krakowie i Zakopanem (ryc. 1 i ryc. 2). Rok 1949 wykazał w Krakowie epidemiczne nasilenie choroby — smugowatości o nekrotycznych objawach, dochodzące do 80% wszystkich krzaków badanych. Kędzierzawka też w tym roku osiągnęła swoje maksimum. Ilość krzaków zdrowych spada do 3%. W Zakopanem natomiast mamy diametralnie przeciwny obraz. Krzywa zdrowotności podnosi się raptownie w górę, gdyż smugowatość w typowej swej nekrotycznej postaci spada do 5%. Jedynie wirus Y w swej mozaikowej formie dochodzi do 17%.

Ponieważ w roku 1948 wirus Y został stwierdzony w Zakopanem u ogromnej większości roślin badanych, zachodzi pytanie, czy w 1949 roku 62% krzaków o pokroju zdrowym pozbawionych było całkowicie infekcji. Przeszczepianie soku tych ziemniaków na roślinę testową siewki tytoniu, odmiany *White Burley*, wykazało w znacznym procencie na tych ostatnich wyraźne objawy wirusa Y w postaci wyraźnego zjaśnienia nerwów liściowych. Pozornie zdrowe ziemniaki w Zakopanem zawierały zatem smugowatość w utajonej postaci. Rośliny, które jesienią 1947 roku dotknięte były infekcją, zależnie od warunków w jakich następował ich rozwój, zareagowały na ten sam czynnik zakaźny w odmienny zupełnie sposób.

W roku 1950 w Krakowie epidemiczne nasilenie choroby z roku poprzedniego gwałtownie spada, natomiast podnosi się krzywa ilości roślin o bezobjawowym rozwoju choroby. W wybitnie suchym roku 1951 to samo zjawisko zaznacza się jeszcze silniej. Bezobjawowe zahamowanie w 1950 i w 1951 roku ogarnia znaczny procent roślin, które giną nie wydawszy bulw. Interesujące jest, że w roku 1950 bezobjawowo zahamowane rośliny, przeszczepione na siewki tytoniu, wykazały obecność wirusa Y w większym

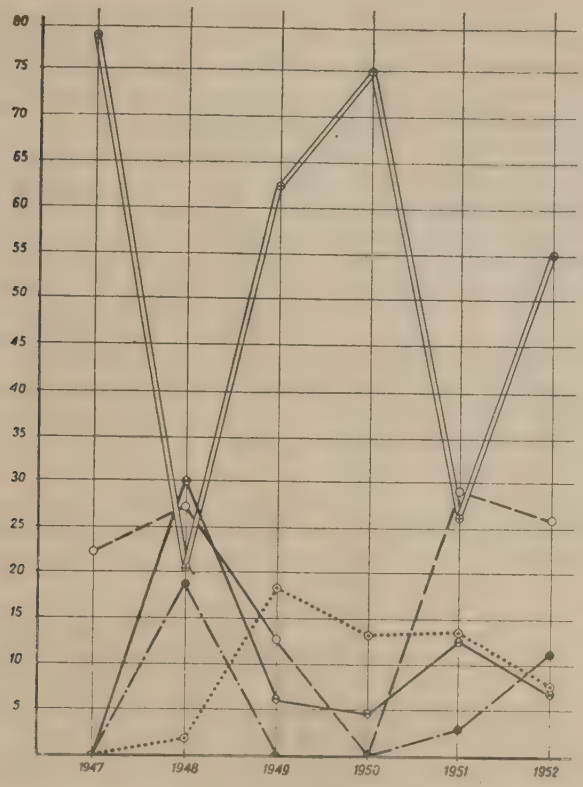


Rys. 1 — Nasilenie wirusa *Y* smugowatości na ziemniakach uprawianych w Krakowie od 1947 do 1952 roku. Na linii pionowej ilość roślin w procentach

Рис. 1 — Интенсивность выступания вируса Y („полосатость") на картофеле, возделываемом в Кракове с 1947 по 1952 г. На вертикальной линии количество растений в процентах

Fig. 1 — Diagram showing the spread of virus *Y* in potatoes cultivated in Cracow from 1947 to 1952. The vertical columns represent the number of plants in percentage

Smugowatość	Вирус Y-некрос	Virus Y-necroses
Kędzierzawka	Вирус Y-морщинистость	Virus Y-crinkle
Zahamowanie w rozwoju	Подавление роста	Degenerated plants
Mozaika	Вирус Y-мозаика	Virus Y-mosaic
Objawowo zdrowe	Здоровые на вид растения	Plants without ysmptomos of disease



Rys. 2 — Nasilenie wirusa *Y* smugowatości na ziemniakach uprawianych w Zakopanem od 1948 do 1952 roku. Na linii pionowej ilość roślin w procentach

Рис. 2 — Интенсивность выступания вируса Y („полосатость") на картофеле, возделываемом в Закопанем с 1948 по 1952 г. На вертикальной линии количество растений в процентах

Fig. 2 — Diagram showing the spread of virus *Y* in potatoes cultivated in Zakopane from 1948 to 1952. The vertical columns represent the number of plants in percentage

Smugowatość — Вирус Y-некрос — Virus Y-necroses

Kędzierzawka — Вирус Y-морщинистость — Virus Y-crinkle

Zahamowanie w rozwoju — Подавление роста — Degenerated plants

Mozaika — Вирус Y-мозаика — Virus Y-mosaic

Objawowo zdrowe — Здоровые на вид растения — Plants without symptomos of disease

procencie niż w następnym, 1951 roku. Wraz ze spadkiem objawowej smugowatości zrazu powoli, a potem wybitnie podnosi się krzywa zdrowotności.

W Zakopanem od 1949 roku do 1952 objawowa smugowatość utrzymuje się na jednym i tym samym niskim poziomie, natomiast ilość objawowo zdrowych osobników w roku 1950 osiąga optimum, dochodzące do 80%. Analizując klasyczną w swoim przebiegu krzywą epidemii, która wystąpiła na ziemniakach pomorskich, uprawianych w Krakowie od 1947 roku, należy rozważyć rolę samego czynnika infekcyjnego w tym zjawisku.

W warunkach miejskich krakowskich od czerwca do połowy września mszyce znajdują się na ziemniakach stale. Źródło zarazy, to jest zarażone smugowatością krzaki, są na każdym ziemniaczanym polu, a przede wszystkim spotyka się je na nieselekcjonowanych poletkach doświadczalnych. Jeśli procent chorych roślin miałby pozostawać w bezpośredniej zależności od czynnika infekcyjnego, jakim są mszyce i chore rośliny, to raptowny spadek krzywej w 1950 i 1951 roku trudno byłoby na tej drodze wytłumaczyć.

Brak zależności między przenoszącymi wirusa Y mszycami a ilością zarażonych roślin jeszcze jaskrawiej wystąpił na ziemniakach sprowadzonych do Krakowa z Pomorza w latach następnych — 1948, 1949, 1950 i 1951.

Epidemiczne nasilenie choroby, które tak charakterystycznie wystąpiło w pokoleniu ziemniaków uprawianych w Krakowie od 1947 r., nie wystąpiło zupełnie w pokoleniach z lat następnych. U ziemniaków sadzonych w Krakowie po raz pierwszy w 1948 roku, w 1949 roku nekrotyczna smugowatość zjawiła się zaledwie na 4% krzaków, gdy na sąsiedniej grzędzie na pokoleniu z roku 1947 opanowała 80% roślin całej plantacji. W obu pokoleniach wiele rodów było tych samych, nie mogła tu zatem odegrać roli różnica w osobniczej, indywidualnej odporności. Wzrost osobników bezobjawowo zahamowanych w rozwoju wystąpił w suchym roku 1950 i 1951 dochodząc do 60% w pokoleniach z lat 1948, 1949 i 1950. Jak wykazało przeszczepianie na rośliny testowe, zahamowanie to nie było spowodowane smugowatością. Przez 4 lata od 1948 do 1952 roku rośliny z objawami smugowatości utrzymują się stale na niskim procencie, choć naloty mszyc były stałe, a źródło zakażenia znajdowało się masowo na sąsiednich grzędach. Raptowny wzrost nasilenia choroby występuje dopiero dla wszystkich pokoleń w ostatnim roku 1952. Krzywe smugowatości w 1952 roku podnoszą się do tej samej wysokości we wszystkich pokoleniach tak, jak to miało miejsce w roku 1948 dla ziemniaków zakażonych smugowatością jesienią w roku 1947, z tą różnicą, że w roku 1951 objawy smugowatości wystąpiły dopiero we wrześniu, a nie w pierwszym okresie wegetacji. Degeneracja roślin, która doszła do optimum w niekorzystnym dla ziemniaka roku 1951, poprzedziła zatem zakażenie, które wystąpiło w roku następnym.

Z obserwacji tych wynikają następujące wnioski;

1) O zakażeniu smugowatością, wirusem Y, decyduje przede wszystkim dyspozycja samej rośliny, a nie wyłącznie czynnik infekcyjny.
2) Epidemiczne nasilenie choroby występuje jako konsekwencja zahamowania rozwoju rośliny w roku poprzednim w związku z warunkami klimatycznymi.
3) Okresy te przychodzą jako następstwo lat, w których roślina dotknięta głodem miała zaburzoną biologiczną równowagę swych życiowych procesów.

4) Klimat wysokogórski powoduje zamaskowanie objawów smugowatości (mniejsze ilościowo nasilenie) dając pozornie zdrowe osobniki oraz częściowe·całkowite ustąpienie choroby.

Dla drugiej, wszędzie w ziemniakach występującej, choroby wirusowej utajonego wirusa X nie znamy źródła zakażenia. Wirus ten nie jest przenoszony przez mszyce, można go przenieść z jednej rośliny na drugą za pomocą mechanicznego potarcia. Został on stwierdzony na wszystkich odmianach ziemniaków europejskich. Najczęściej nie wywołuje na nich żadnych wyraźnych chorobowych objawów. Przeszczepiony na rośliny testowe, siewki tytoniu, ujawnia na nich całą gamę wyraźnie różniących się między sobą objawów. Na tej podstawie w obrębie wirusa X opisano cały szereg ras różniących się między sobą stopniem wirulencji. Do dziś dnia sposób rozszerzania się tego schorzenia jest zagadką.

W czasie 6-letnich naszych doświadczeń wirus X poddawany był bardzo szczegółowemu badaniu przy użyciu zarówno serologicznych, jak i biologicznych metod. Metodą precypitacji i odchylenia dopełniacza określano w poszczególnych roślinach ilościowe nasilenie choroby. Przeszczepiając sok z tych roślin na rośliny testowe ustalono jakość, to jest rasę wirusa X i jej wirulencję.

Nie mogąc ze względu na ograniczony czas referatu podać szczegółowo wyników tych badań, ujmę je tylko w formie wniosków ogólnych, które w zasadniczej swej linii zgadzają się z wynikami otrzymanymi dla wirusa Y.

1) Nasilenie wirusa X w tkance roślinnej ulega zmianie w związku ze zmianą warunków jej życia. Przeniesienie ziemniaków z Pomorza do Krakowa zwiększa nasilenie choroby.
2) Rasy wirusa X, zależnie od indywidualnych własności danego rodu i od zmieniających się warunków, przechodzą wzajemnie w siebie, rasy łagodne w wirulentne i na odwrót.
3) Klimat wysokogórski zależnie od stopnia nasłonecznienia nie pozwala na ujawnienie się silnie wirulentnych ras.

Obserwacje oparte na doświadczeniach nastawianych przez samą przyrodę dają podstawy niejednokrotnie do daleko idących wniosków o charakterze ogólnym. Dojście jednak na tej drodze do wykrycia przyczyny zjawiska, i to tak złożonego jak synteza wirusowych białkowych substancji w roślinie jest niezmiernie trudne, nie wiadomo nawet, czy możliwe. Jest to raczej drogowskaz, dzięki któremu otrzymujemy wskazania, w jakim kierunku iść powinny doświadczenia laboratoryjne, kierowane bezpośrednio ręką badacza.

Z olbrzymiego kompleksu czynników, działających na roślinę w czasie jej rozwoju, dającego w efekcie podatność lub brak podatności jej komórkowej treści na rozwój wirusowego schorzenia, można w warunkach szklarniowych i laboratoryjnych niektóre przynajmniej z nich poddać szczegółowej analizie. Temperatura, światło i wilgotność były przedmiotem licznych pod tym względem dociekań.

W naszym zakładzie otrzymaliśmy dość interesujące wyniki badań wpływu wysokich temperatur na rozwój wirusa X w tkance roślinnej. Przez

4 lata hodowane były ziemniaki, zawierające w bulwach wirusa X w bardzo małym nasileniu, w szklarni w temperaturach wysokich od 30° do 50°. Okazało się, że podniesienie temperatury nawet do 40° zwiększa wprawdzie nasilenie wirusa X, ale stosunkowo w sposób nieznaczny, dający się stwierdzić tylko reakcją odchylenia dopełniacza. Natomiast temperatura 50° powoduje w komórce daleko idące zmiany; surowica anti-X dała z sokiem tych ziemniaków wyraźną precypitację, która nie wystąpiła ani u odpowiedników wysadzonych w polu, ani hodowanych w niższych temperaturach w szklarni. Ziemniaki w roku następnym, wyhodowane w warunkach polowych z bulw roślin, rozwijających się w roku poprzednim w temperaturze dochodzącej do 50°, nie dały jednak w dalszym ciągu zjawiska precypitacji z surowicą anti-X.

Hamujące działanie światła na rozwój wirusa X w tkankach roślinnych było stwierdzane niejednokrotnie w bardzo prostych doświadczeniach. Bulwy poddane przed sadzeniem jarowizacji, kiełkując na świetle, dają na ogół rośliny o mniejszym stopniu degeneracji powodowanej chorobami wirusowymi.

Przeprowadzone w moim zakładzie doświadczenia wazonowe nad wpływem nadmiaru wilgoci w glebie w warunkach szklarniowych, w atmosferze nasyconej parą wodną, nie wykazały w tkance ziemniaka wzrostu nasilenia wirusa X. Ilość wody w glebie powinna być rozpatrywana zawsze łącznie z wilgotnością względną powietrza.

Spomiędzy czynników działających na roślinę czynnikiem w pewnym sensie łatwiejszym do uchwycenia od klimatu jest gleba. Ciekawe pod tym względem są obserwacje dokonane nad wpływem gleb torfowych na stopień schorzeń wirusowych u ziemniaków. Na glebach torfowych ziemniaki na ogół regenerują podobnie, jak to ma miejsce w klimacie górskim.

Badanie w naturze wpływu zespołu razem działających czynników, a następnie poszczególne ich analizowanie w bardziej lub mniej izolowanych warunkach laboratoryjnych prowadzić musi w konsekwencji nie tylko do stwierdzenia zwiększenia się lub zmniejszenia pod ich wpływem samego nasilenia choroby, ale skierowuje myśl badawczą do wniknięcia w istotę zmieniającego się metabolizmu treści komórkowej, który musi towarzyszyć wszystkim opisanym przez nas zjawiskom.

Na wstępie mego referatu starałam się podkreślić specyficzność wirusów roślinnych, polegającą na niezmiernej prostocie ich budowy. Wyizolowane z komórki białko wirusowe pozbawione jest enzymów. Enzymy proteolityczne, które przy mnożeniu się białka wirusowego są nieodzownym partnerem, są elementem w komórce roślinnej najmniej poznanym. Dobrze zbadane są natomiast cegły budujące drobinę nukleoproteidu wirusowego, mianowicie aminokwasy. Badania biochemiczne wyizolowanych wirusów roślinnych nie wykazały dotychczas różnic w składzie i strukturze kwasu nukleinowego, natomiast stwierdzono, że nie tylko poszczególne daleko od siebie stojące wirusy, ale nawet ich rasy różnią się składem ilościowym i jakościowym oraz rozmaitym układem strukturalnym aminokwasów. Gdzie i jaką drogą odbywa się synteza wirusowego białka, zmieniająca normalny metabolizm komórkowej treści, jest to zagadnienie absorbujące umysły badaczy pracowni wirusologicznych na całym świecie.

A. Козловска

К БИОЛОГИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВИРУСОВ

Резюме

На вирусное заболевание растений слагаются два фактора: инфекционный фактор, каким является проникшая в растительную клетку чуждая белковая частица, и своеобразное реагирование самого содержимого клетки, проявляющееся наружу симптомами, характеризующими болезнь целого растительного организма. В настоящей статье описана связь, какая наблюдается между внешними условиями, вызванными изменениями климата, влияющими на картофель (*Solanum tuberosum*), и интенсивностью и внешними симптомами двух весьма распространенных вирусных заболеваний, а именно, вызванных вирусами Y и X.

Исследования производились над картофелью на опытных делянках в Кракове и Закопанем с 1947 по 1952 г. В течение этих 6 лет, как на низменности, так и в горах климат во время отдельных вегетационных периодов подвергался сильным колебаниям. В Кракове года 1947, 1950 и 1951 были исключительно сухие и жаркие, в то время как года 1948, 1949 и 1952 отличались сравнительно большими атмосферными осадками и холодом. Вообще климат в Кракове в течение 4 летних месяцев имеет характер „степного климата", так как индекс испаривания в течение большинства дней выше суммы осадков. Наоборот, в Закопанем господствуют как раз противоположные климатические условия: осадки много раз превышают индекс испаривания. Один только 1950 г. выделяется в Закопанем как год сравнительно сухой.

Начиная с 1947 года ежегодно привозился из поморских опытных сельскохозяйственных станций в Краков картофель. Эти растения в Померании не проявляли никаких симптомов вирусных болезней, достигая здесь своего оптимального развития. Каждая доставленная картошка дала начало растению, развитие и состояние здоровья которого, благодаря вегетативному размножению, можно было наблюдать, как в Кракове, так и в Закопанем, в течение всех следующих лет.

Наряду с вирусными заболеваниями, которые можно было установить на основании характерных симптомов, наблюдалось еще и замедление в развитии и росте растений, необоснованное ясно выраженными болезненными симптомами. Во всех поколениях картофеля, доставленного из Померании, процент выродившихся растений достигал своего максимума (60%) во время сухих и жарких лет.

В Кракове поколения картофеля подвергались постоянной опасности заражения вирусными болезнями благодаря беспрерывным, периодическим в городских условиях, инвазиям мошек. Несмотря на то, что возможность инфекции была всегда очень велика поколения картофеля, даже растущие в ближайшем соседстве, в различной степени были затронуты заболеванием, вызванным вирусом „Y" (полосатость). Эта болезнь приобрела эпидемический характер в 1949 году и постигла лишь те растения, которые пережили в Кракове сухой 1947 год. Картофель, доставленный в 1948, 1949 годах не заболел этой болезнью. Эта болезнь более интенсивно у них появляется лишь только в 1952 г. вследствие суши, постигшей Польшу в 1950 и 1951 годах.

Зараженный в Кракове вирусом „Y" в 1947 г. картофель, засаженный в 1948 г. в Закопанем не только не вызвал эпидемии этой болезни в 1949 году, но проявил

в этом году замаскирование симптомов, а в следующие годы значительное процентное ее понижение.

На основании изложенных наблюдений можно прийти к следующим заключениям:

1. Решающее значение для заражения вирусом „*Y*" прежде всего имеет предположение самого растения, а не исключительно инфекционный фактор;

2. Причиной эпидемического характера этой болезни („полосатость") является главным образом суша, постигшая страну в предыдущем году, вызывающая у картофеля явления дегенерации;

3. Высокогорский климат вызывает замаскирование симптомов болезни наряду с частичным понижением случаев заболеваний.

Произведенные серологическими и биологическими методами исследования над скрытыми вирусами „*X*" на том же картофеле можно свести к ниже следующему:

1. Интенсивность инфекции вирусом „*X*" растительной ткани изменяется, как правило, в связи с переменой условий ее жизни. Перенесение картофеля из Померании в Краков сразу и сильно повышает количество заболеваний.

2. Расы вируса „*X*" в зависимости от индивидуальных особенностей данного клона и от изменяющихся внешних условий переходят друг в друга. Расы слабо вирулентные в сильно вирулентные и обратно.

3. Высокогорский климат в зависимости от степени соляризации не позваляет проявиться сильно вирулентным расам вируса „*X*".

A. Kozłowska

ON THE BIOLOGY OF PLANT VIRUSES

Summary

Two elements constitute the virus disease in plants, namely: infestation which is brought about by foreign nucleo-protein molecules, and secondly the individual reaction of the cell substances which manifest themselves exteriorly by different symptoms of the disease. This paper treats in the first instance of the correlation which exists between climate and the spread, intensity and external symptoms of two very frequent virus diseases in potatoes, namely the virus Y and virus X.

The potatoes were observed in the experimental fields of Cracow and Zakopane from 1947-52. In the lowlands as well as in the mountains the climate was subject to prominent fluctuations in the periods of the growth of the plants during these 6 years. In Cracow the years 48, 49 and 52 were comparatively cool and humid, whereas the years 47, 50 and 51 were distinctly dry and hot. In general, in the heart of summer the climate of Cracow can be characterised as a „steppe" climate. The amount of daily evaporation is higher than the sum of rainfall. At Zakopane, in contrast with Cracow, these circumstances are just the reverse: the rainfall surpasses manifold the evaporation. At Zakopane only the year 50 was comparatively dry.

Since 1947 tubers of potatoes have been imported every year from experimental Stations of Pomerania. There these potatoes had not shown any symptoms of virus diseases and their development was optimal. Thanks to vegetative propagation the development and health of every plant was studied in Cracow and partly at Zakopane during all the following years. The plants showed symptoms of virus diseases as well as general degeneration without specific symptoms of virus diseases.

In all the successive generations of potatoes brought in from Pomerania the percentage of degenerated plants attained the highest level (60%) in hot and dry years.

In Cracow the potatoes were continually colonised by aphides, in consequence of which they were permanently in danger of being infested. In spite of that the generations of potatoes imported in different years planted in mutual neighbourhood underwent the infestation of virus Y in different ways. The virus Y infested epidemically in the year 1949 only these potatoes which grew in Cracow in the dry year 1947 (fig. 1). The potatoes imported in the years 1948, 1949 were not infested by the virus Y. This disease reached its highth in these potatoes only in the year 1952 after the drought which reigned in the years 1950 and 1951.

The potatoes infested in Cracow in 1947 by the virus Y and transplanted to Zakopane, have not only manifested no epidemy in 1949 but they have masked its symptoms already that year and many plants got rid of it completely in the following years (fig. 2).

From these observations we may conclude that:

1. The biological state of the potato plant is a more prominent element associated with the infestation by virus Y than the infection factor itself.

2. The epidemic intensity was in our experiments a consequence of the degeneration of the potatoes plants in the previous year owed to the conditions of the climate.

3. Mountain climate masks the symptoms of virus Y and diminishes partly the infestation itself.

Biological and serological observations of potato virus X of the same potatoes have given the following results:

1. The increase of virus X in the potato tissue undergoes alterations in correlation with the changes of the vital conditions of the plant. Potatoes transplanted from Pomerania to Cracow undergo an increase of virus X.

2. The strains of virus X interchange mutually in correlation of the qualities of the given variety of the potatoes and of the climate conditions. Mildly virulent strains pass into strongly virulent one and vice versa.

3. Mountain climate probably in correlation with insolation does not allow the strongly virulent strains of virus X to develop.

Acta Microbiologica Polonica Vol. II, No 4

A. Joszt

ZAGADNIENIA MIKROBIOLOGICZNE W TECHNOLOGII WODY I ŚCIEKÓW

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ В ТЕХНОЛОГИИ ВОДЫ И СТОЧНЫХ ВОД

MICROBIOLOGICAL PROBLEMS IN WATER, SEWAGE AND INDUSTRIAL WASTES TECHNOLOGY

(Referat wygłoszony na sekcji mikrobiologii ogólnej, przemysłowej i rolniczej XII Zjazdu Mikrobiologów Polskich w Łodzi, 8 — 11 listopada 1952 r.)

Z Zakładu Technol. Chem. Przem. Roln. Politechniki Śląskiej w Gliwicach

Wpłynęło dn. 7.IV.1953

W chwili gdy całe nasze państwowe i społeczne życie przebiega w myśl z góry ułożonych i ustalonych planów z naszym wielkim 6-letnim planem na czele — w momencie gdy dla osiągnięcia tego samego celu w zakresie badań naukowych powstała i działać zaczyna Polska Akademia Nauk, by także wszelkie naukowe poczynania z góry powziętym planom mogły służyć i spełniać niezwykle ważne swe zadania w porządku ich ważności, słuszna jest myśl Komitetu Organizacyjnego naszego Zjazdu, by oprócz komunikatów i dyskusji na temat wyników badań uzyskanych w poszczególnych pracowniach poświęcić pewną ilość czasu sprawie programu tych badań i ewentualnej kontroli, czy uwzględniają one należycie całokształt naszych potrzeb.

Zadanie to jest oczywiście przede wszystkim rzeczą Akademii i jej poczynań, jednakże i nasz Zjazd może i powinien podać w tym kierunku pewne myśli.

Wydaje mi się, że jednym z tych kierunków, które w niedostatecznej mierze stanowią zainteresowania naszych naukowych pracowni i badaczy, jest właśnie tematyka objęta tytułem mego referatu. Takie losy owych zagadnień nie są wcale czymś zadziwiającym, jeśli się stwierdzi, że do niedawna sama sprawa wody, ścieków i ich traktowania w naszej gospodarce nie zaprzątała wiele uwagi w naszym życiu. Wprawdzie bowiem Oddziały Wodne Państwowego Instytutu Higieny także i w dzisiejszej, ostatniej jego organizacyjnej formie — stale i pilnie przestrzegały ważności oznaczania miana *Coli* oraz ilościowej bakteriologicznej analizy wody pitnej i używanej do celów gospodarczych, przy czym analogicznie to samo czyniły dla wody i ścieków placówki naukowo-badawcze Komitetu Ochrony Rzek, ale mikrobio-

logicznej tematyce badawczej (nie kontrolnej) bardzo niewiele poświęcono u nas czasu. Rozległy zakres zajmuje u nas bakteriologia lekarska i weterynaryjna, mikrobiologia typu fytopatologicznego, mikrobiologia przemysłów fermentacyjnych i tych przemysłów, w których drobnoustroje odgrywają rolę szkodników, następnie mikrobiologia gleby a także hydrobiologia. Ta ostatnia jednak z tym, że główne miejsce w jej tematyce zajmują zagadnienia fyto- i zoo-planktonu. Bakteriologia jednak wody i bakteriologia ścieków oraz wód zanieczyszczonych, opracowywanych u nas także i w hydrobiologicznej sferze tematów, stoi na ostatnim miejscu, co więcej, zachodzi zasadniczy brak naukowców, którzy by poświęcali swą pracę przede wszystkim tym działom.

Wymienione tu braki w uprawianej u nas tematyce badawczej i w personelu naukowym, poświęcone tego rodzaju badaniom, stanowią poważną lukę naszej mikrobiologii — a to tym bardziej, że technologia wody i ścieków jest istną kopalnią nie tylko teoretycznie, ale i przede wszystkim praktycznie bardzo ważnych tematów i zagadnień. Wypełnienia tej luki wymaga od nas samo życie, i to już dzisiaj. Minął już bowiem czas braku zainteresowania dla spraw wody i ścieków. Dowodzą tego aktualne rozporządzenia Prezydium Rządu, Państwowej Komisji Planowania Gospodarczego, Ministerstwa Gospodarki Komunalnej i Ministerstwa Zdrowia, ustanowienie Instytutu Gospodarki Komunalnej z przewidywanym tam Instytutem Wodnym, podejmowane w tym kierunku prace Polskiej Akademii Nauk, instalowanie wydziałów inżynierii sanitarnej na politechnikach i płynące stąd zapotrzebowanie odpowiednich sił naukowych, utworzenie stanowiska Pełnomocnika Przewodniczącego Państwowej Komisji Planowania Gospodarczego do spraw wody pitnej i przemysłowej Centralnego Rejonu Przemysłowego Śląska, czteroletnia już dzisiaj praca Międzywojewódzkiego Komitetu Ochrony Rzek przed zanieczyszczeniem w okręgu Stalinogród — Kraków, w której to pracy mam zaszczyt brać od początku udział — to oznaki życiowej konieczności tych spraw. To także jest bodźcem, by Zjazd nasz zawczasu i przed oczekującymi cały nasz kraj pracami zwrócił również baczną uwagę na konieczność podjęcia odnośnej tematyki badawczej, jak i na konieczność uzupełnienia pod tym względem naszych mikrobiologicznych kadr pracowników naukowych, poświęconych zagadnieniom wody i ścieków.

Gdy rozpatrujemy tutaj te sprawy, wydaje mi się, że mimo wszystko nie będzie od rzeczy dokładnie uzmysłowić sobie i uczynić to podstawą naszych rozważań, iż zagadnienie bakteriologiczne, a raczej mikrobiologiczne wody i ścieków to nie tylko sama sprawa czysto sanitarna, tj. sprawa bakterii chorobotwórczych i ich obecności lub prawdopodobieństwa tej obecności w wodach użytkowych. Czynnik mikrobiologiczny i działalność drobnoustrojów w wodzie stanowi bowiem w technologii wody i ścieków daleko szerszy zakres, stanowiący przewodnią linię i nić, przewijającą się wzdłuż całego obiegu wody w przyrodzie włącznie z ludzkim jej użytkowaniem. Całość tych zagadnień jest wskutek tego i bardzo szeroka, i bardzo ważna zarówno z teoretycznych, jak i wręcz praktycznych, gospodarczych względów. Obejmuje ona bowiem tak mikrobiologię wód absolutnie czystych, jak i wód zanieczyszczonych, mikrobiologię procesów samooczyszczenia się odbiorników (które w dodatku, jak wiemy, odbywa się w całym szeregu stadiów), problemy oczyszczania sztucznymi sposobami wód dla użytku człowieka, jak i specjalnie biologicznego oczyszczania ścieków miejskich i bardzo wielu

ścieków przemysłowych, kwestie mikrobiologicznego wyzyskiwania niektórych składników ściekowych, sprawy sanitarnego stanu wody użytkowej, a poza tym wiele takich zagadnień przemysłowych, które, jak np. ruch tzw. chłodni kominowych, pozornie nie mają z mikrobiologią nic wspólnego.

Zaznaczywszy w ten sposób z jednej strony konieczność rozszerzenia mikrobiologicznych badań w zakresie wody i ścieków, a z drugiej samą skalę obszaru odnośnych zagadnień, pragnąłbym w dalszym ciągu poświęcić parę słów uwagi poszczególnym działom tych spraw i badań — najważniejszym według mnie tak z punktu widzenia teoretycznego, jak i praktycznego tej dziedziny.

Rozpatrując te sprawy po kolei muszę na początku zaryzykować twierdzenie, że hydrobiologia naszych wód powierzchniowych i gruntowych, wód mianowicie użytecznych, a już szczególnie ich mikrobiologia, tj. ściśle mówiąc występujące tu bakterie, drożdżaki i pleśniaki, są dalekie od stanu zbadania i badania, które można by nazwać choćby tylko wystarczającym dla naszych potrzeb. Badania te bowiem są nie tylko bardzo nieliczne i odosobnione, ale poza tym nie są one systematycznie i należycie w naszym kraju przygotowane i zorganizowane.

Ważność systematycznego podjęcia takich badań wynika wszakże choćby stąd, że np. w nawet dość czystych jeziorach ilość bakterii jest ogromna i może wyrażać się w setkach tysięcy i milionach komórek na 1 ml wody, a w setkach milionów i miliardach na 1 g dennego osadu. Ilościowe poznanie i jakościowe rozsegregowanie tych populacji, i to w zależności od wodnego ośrodka, w którym one występują i swą potężną działalność rozwijają, ma nie tylko czysto teoretyczne — powiedzmy — florystyczne znaczenie, polegające na poznaniu krajowej przyrody naszych wód. Przede wszystkim bowiem pozwoli to dokładnie scharakteryzować skład chemiczny i stan biologiczny naszych czystych wód użytkowych, wykazać stan wód, jakie mamy w praktyce do dyspozycji, rzucić światło na potrzebę dalszego traktowania tych wód przed ich zużyciem i na ewentualną rozmaitość środków dla takiego traktowania koniecznych.

Wcale nie na ostatnim miejscu trzeba tu zaznaczyć jeszcze jeden szczegół. Dokładne poznanie czystych wód rzecznych przez dalszym ich już mniej lub więcej zanieczyszczonym stanem jest ważne również dla akcji oczyszczenia naszych, dziś nieraz bardzo brudnych traktów wodnych. W ten bowiem sposób mamy w ręku stan ich wyjściowy jakby początek układu, od którego mapa trasy rzecznej pod względem charakterystyk swej czystości bądź zanieczyszczenia będzie się rozpoczynała. Ma to wtedy swoje i analityczne i technologiczne znaczenie dla zastosowania danej wody. W tym to właśnie sensie proponował w swoim czasie prof. Szafer Międzywojewódzkiemu Komitetowi Ochrony Rzek dokładne zarówno chemiczne, jak i przede wszystkim biologiczne zbadanie jednego z naszych najbardziej czystych, niejako wzorcowo czystych górskich potoków, a mianowicie Łopuszanki, co zresztą na razie tylko częściowo zostało wykonane. A zatem myśl, którą tu poruszam, a która dotyczy wszczęcia systematycznych badań mikrobiologicznych naszych czystych wód użytkowych, jest właściwie rozszerzeniem przytoczonego tu projektu. Rozszerzenie to dotyczy objęcia większej ilości wodnych obiektów takim badaniem jak również wzięcia w tych badaniach pod uwagę stosunków mikrobiologicznych, bakteriologicznych tych wód.

Zupełnie dobrze zdaję sobie sprawę z tego, że przeprowadzenie takich badań to sprawa bardzo szeroka, wymagająca bardzo dużej ilości pracowników, środków materialnych i czasu. Chodzi jednak głównie o to, by praca ta została istotnie zaplanowana, systematycznie rozpoczęta i stopniowo prowadzona, począwszy od rzeczy najważniejszych do kolejno mniej ważnych, w takich terminach czasu, na jakie będzie stać nasze środki naukowe, personalne i materialne, w takim jednak tempie, jakiego będzie wymagać nasza gospodarka krajowa i nasze stosunki społeczne.

Możliwość rozpoczęcia tej pracy, i to nawet od zaraz, tkwi bodaj już i w tym, że wszakże instytucje badające nasze wody pitne i gospodarcze stale prowadzą oznaczenia miana *Coli* i ilościowe bakteriologiczne analizy tych wód. Otóż wydaje mi się, że już samo usystematyzowanie zdobytego na tej drodze materiału, ewentualne wyrównanie na przyszłość metodyki badań i dalsze ich prowadzenie wraz ze skoordynowaniem otrzymywanych wyników z pojęciem m a p y naszych najważniejszych użytkowych wód — stanowiłoby od razu początek tej pracy.

Byłoby daleko trudniejsze, naturalnie, rozszerzenie tego programu badań na rozsegregowanie bakteryjnych i innych mikrobiologicznych wodnych populacji. Ale i tu jest zawsze możliwa droga od małych, ale już usystemizowanych początków do dalszych bardziej rozległych badań i wyzyskania ich wyników. Te ostatnie musi się uważać za ważne pod każdym względem. Wszakże skład chemiczny i fizjologiczne właściwości, a wśród nich np. przemiana materii, zdolność wytwarzania witamin itd. są tak bardzo różne u rozmaitych bakterii, że wpływ ich na całą biologię wody da się rozświetlić tylko na drodze właśnie rozdzielenia, na drodze jakościowego rozróżniania w poszczególnych rodzajach czystych użytkowych wód tych indywiduów bakteryjnych, które właśnie w nich żyją i działają. Aby nie mówić tylko ogólnie, pozwolę sobie przytoczyć tu szczegółowy przykład azotobaktera, jego obecności i działalności oraz symbiozy z niektórymi gatunkami flory wodnej, wpływu wreszcie, jaki może on wywierać na produktywność wody i związanych z nią gleb, o czym coraz liczniejsze wzmianki napotykamy w literaturze radzieckiej i innej.

Drugą taką grupę badań widziałbym w rozwinięciu zagadnień mikrobiologicznych, dotyczących badania wody pod względem czysto sanitarnym i lekarskim w kierunku nie saprofitycznych, ale patogennych organizmów. W zasadzie pomijam tu tę sprawę z tej racji, że należy ona typowo do zagadnień objętych inną sekcją naszego Zjazdu. Wolno mi jednak tu stwierdzić, że pożądany kierunek badań w tym dziale leży między innymi w dążeniu do uzyskania jeszcze pewniejszych i szybszych metod stwierdzania zakażeń bądź ich prawdopodobieństwa w wodzie, niż dziś używane sposoby. Tak np. dalsze opracowania metody oznaczania miana *Coli* lub kontrola jej wyników ze względu na możliwość ich pochodzenia od niejelitowych bakterii albo też opracowanie bardziej bezpośredniej a szybkiej i użytecznej metody mikrobiologicznej analizy można uważać za kierunki badań bardzo potrzebne i rokujące nadzieje na uzyskanie pożytecznych wyników. Przykładem takiej możliwości jest np. streszczona w przedzjazdowej publikacji praca kol. Morzyckiej, Morzyckiego i Georgiadesa, sygnalizująca oznaczanie miana bakteriofaga anty-*Vi* zamiast *Coli* jako znacznie lepiej nadająca się do wykrycia zanieczyszczenia wody ludzkimi odchodami.

W dalszym ciągu — o ile chodzi o wody czyste i użytkowe — trzeba zwrócić uwagę na zagadnienie występujących w wodzie bakterii żelazistych (te są w literaturze dość wszechstronnie opracowane), a szczególnie mniej poznanych bakterii manganowych. Występowanie ich w mikroflorze naszych wód byłoby objęte zagadnieniem, które tu na początku już poruszyłem. Dalsze i dokładne poznanie ich, a szczególnie bakterii manganowych, jest ściśle związane z technologią wody, jej użytecznością i przeróbką, a specjalnie w dorzeczu Odry, gdzie występowanie manganu i bakterii nagromadzających jego związki w swych otoczkach było już, jak wiemy z literatury technicznej, powodem katastrofalnych przypadków w dostawie wody użytkowej. Specjalnie pragnę zwrócić uwagę na dwa działy technologii wody, dla których bliższe zastosowanie obu rodzajów bakterii i ich fizjologii oraz zastosowanie tych badań i wiadomości miałoby ważne znaczenie.

Dotyczy to najpierw odżelaziania i odmanganiania wody, w których to technologicznych procesach bakterie te, a szczególniej manganowe, mają główne znaczenie. Wyosobnienie przecież np. całego szeregu szczepów manganowych bakterii i zastosowanie w urządzeniach służących do usuwania manganu z wody tych gatunków, które najszybciej i w najbardziej technicznie dogodnych warunkach to nagromadzenie manganu przeprowadzają, pozwoliłoby na wyraźne zracjonalizowanie odpowiedniej przeróbki wody i jej usprawnienie. Ważność tej sprawy polega nie tylko na konieczności odżelazienia i odmanganiania wody do picia i gospodarczych celów użytkowych, ale dla wielu przemysłów, z których np. przemysł celulozowy, specjalnie jeśli chodzi o celulozę najwyższych gatunków, a dalej przemysł papierniczy, tekstylny, wiele działów przemysłu chemicznego i in. potrzebują wody o niezmiernie małych ilościach obu metali.

Z drugiej znów strony bakterie żelaziste i manganowe stają się łatwo szkodnikami nie tylko wodociągów, ale także urządzeń chłodniczych, co dla naszych siłowni, hut itp. ma pierwszorzędne znaczenie, gdyż nagromadzenia bakteryjne powodują w chłodniczych przewodach utrudnienia dla przenoszenia ciepła oraz wręcz zaczopowania tych przewodów i, co za tym idzie, konieczność częstego ich oczyszczania, połączonego ze zwiększaniem kosztów oraz zużycia samych chłodniczych urządzeń. Mikrobiolog więc pracujący nad takimi bakteriami ma możność wzięcia udziału w usuwaniu tych ważnych przeszkód w bardzo wielu działach naszego przemysłu, a praca jego łatwo może mieć bezpośredni wpływ na los i wyniki pracy danego działu przemysłu. Poza tym interesujących i koniecznych do bliższego zbadania grup bakterii jest wiele, z których np. bakterie siarkowe, odpowiedzialne za szereg ważnych zmian zachodzących w wodzie i ściekach, zasługują tu również na ważną wzmiankę.

Przechodząc dalej pragnę napomknąć o mikrobiologicznych trudnościach ruchu chłodni kominowych, który to problem — jak już wspomniałem — pozornie nie ma nic do czynienia z zagadnieniami mikrobiologicznymi. Chciałbym posłużyć się tym jako szczegółowym przykładem występowania ważności zagadnień mikrobiologicznych w zakresie technologii i użycia wody. W myśl zasad oszczędności w gospodarce wodnej wszelkich cieplnych siłowni i wszelkich wytwórni i kombinatów pracujących z użyciem dużych ilości wody dla celów chłodniczych, pracują w bardzo dużej ilości w naszym kraju chłodnie kominowe, mające na celu ochłodzić w zetknięciu z powie-

trzem (w ciągu kominowym) wodę ogrzaną, aby móc ją zawrócić z powrotem do urządzeń chłodniczych, do tzw. obiegu wody. Otóż wnętrza tych chłodni, przeważnie o wewnętrznej drewnianej konstrukcji, zarastają wegetacją bakterii, pleśniaków, często także glonów, przez co zmienia się obliczony wszakże bieg wody w takich chłodniach, woda odpływająca ulega zanieczyszczeniu zawiesiną tych wegetacji, szkodliwą w dalszym ciągu dla działania urządzeń, np. przewodów rurowych chłodniczych. Czasem też ulega zniszczeniu drewniana konstrukcja samej chłodni. Niekorzystne to zjawisko zwalcza się przez miedziowanie lub chlorowanie wód idących na chłodnię. Racjonalizacja tej sprawy, ważna choćby ze względu na bardzo szerokie zastosowanie owych chłodni, może i musi polegać na podstawowej pracy mikrobiologa, nie mówiąc nic o tym, że samo teoretyczne poznanie i rozsegregowanie występujących tu populacji może być bardzo ciekawe, a z punktu widzenia praktycznego i przemysłowego konieczne.

Jeśli przedstawić sobie — choćby na podstawie tego, co tu już było powiedziane — ważność mikrobiologicznych zagadnień dla wód użytkowych i ich technologii, to tym bardziej staje się ona jasna w odniesieniu do wód mniej lub więcej zanieczyszczonych. Ma to — rozumie się — miejsce szczególnie tam, gdzie zanieczyszczenia owe reprezentują chemiczny typ związków podlegających metabolizmowi wodnych istot żywych — w tej liczbie przede wszystkim bakterii itp. drobnoustrojów.

Najpierw więc wchodzi tu w grę proces samooczyszczania się wód powierzchniowych ze składników ściekowych. Odgrywają tu wprawdzie rolę wszystkie właściwie wodne organizmy, począwszy od bakterii poprzez zoo- i fyto-plankton i wyższe roślinne i zwierzęce formy aż do ryb i wodnego ptactwa włącznie, ale bakterie (tlenowe i beztlenowe saprofity) i inne mikroorganizmy mają w tej sprawie bodaj że ilościowe a dalej i czasowe pierwszeństwo.

Ten bardzo skomplikowany proces, odbywający się w całym szeregu stadiów wśród bardzo różnorodnych przemian, i to takich, które się nawzajem nawarstwiają lub przeciwnie, wykluczają — przemian w dodatku zależnych od bardzo licznych niebiologicznych i biologicznych czynników — podlegał i podlega ze względu na swą wielką dla człowieka ważność bardzo licznym i szerokim badaniom. Idą one szczególnie w dwu kierunkach: w jednym z nich chodzi o uzyskanie wzorów matematycznych, choćby w przybliżeniu pozwalających na obliczenie długości trasy rzecznej, potrzebnej dla przebiegu procesu samooczyszczania do końca, wzorów opartych na parametrach oznaczonych dla danego odbiornika i przyjmowanych przezeń ścieków. Badania znów hydrobiologiczne dały już podstawę do diagnozy stanu zanieczyszczenia wody według organizmów „wskaźnikowych" (Kolkwitz), na zasadzie czego wszakże odbywa się stale hydrobiologiczna analiza wód oraz dennych osadów.

Wydaje mi się jednak, że pomijając sprawę oznaczeń miana *Coli* oraz ilościowej mikrobiologicznej analizy prowadzonej drogą rozcieńczeń, a nie bezpośredniego liczenia (np. metodami Razumowa, Isaczenki, Chołodnego czy innych), badanie mikrobiologicznej istoty tych procesów połączone z rozdzielaniem i szczegółowym poznaniem występujących tu indywiduów drobnoustrojowych mało jest opracowywane, grubo za mało w stosunku do ważności tych spraw. Już sama niejako florystyczna praca i poznanie występu-

jących tu populacji może i musi stać się podstawą do zbadania praktycznie tutaj ważnych okoliczności, choćby np. do rzucenia światła na użyteczność bądź wątpliwość proponowanych wyżej wspomnianych, a często zawodzących wzorów.

Szczególnie ważne i teoretycznie niezmiernie ciekawe byłoby takie badanie w przypadku ścieków przemysłowych, a specjalnie chemicznych, z którymi dostają się do odbiorników często substancje o naturze pozornie nie mającej charakteru biologicznego, a mimo to podlegających przemianom i ostatecznej mineralizacji w procesie samooczyszczania. Za przykład takich substancji mogą służyć kwasy lignino-sulfonowe (główne zanieczyszczenie ścieków z produkcji celulozy siarczynowej), fenol oraz jego homologi i analogi, zanieczyszczające ścieki wielu przemysłów, jak np. koksochemicznego i koksowniczego i innych. Pod względem technologicznym są to już dziś zanieczyszczenia niezmiernie uciążliwe, np. w rejonie dorzeczy śląskiego zagłębia przemysłowego, które z szybkim rozwojem przemysłu chemicznego a także z przyszłym planowym rozwojem, np. metod flotacyjnych w przemyśle węglowym i innych, będą coraz uciążliwsze. Stać się to zaś musi w kierunku samego zwiększenia ilości przypadków takich zanieczyszczeń bądź pogorszenia obecnego stanu jak i w kierunku zwiększenia samej różnorodności substancji chemicznych, z jakimi będzie się miało do czynienia.

Jasne jest, że tego rodzaju chemicznych zanieczyszczeń musi unikać sam przemysł, choćby tylko z racji oszczędności materiału tych substancji, ale równie oczywiste jest, że regeneracja ze ścieków nie może nastąpić w 100 procentach. Wskutek tego będą jednak ciała te występowały w ściekach i albo dostawały się do publicznych odbiorników, albo trzeba będzie unieszkodliwić je w specjalnie dostosowanych do tego celu, bardzo często właśnie biologicznych, oczyszczalniach.

Domieszki zaś tego rodzaju muszą w zasadniczy nieraz sposób zmieniać przebieg procesu samooczyszczania, a więc także zmieniać populacje wodnej mikroflory, która nas tu interesuje. Dokładne poznanie, a więc i rozsegregowanie takich populacji, np. bakteryjnych, i zbadanie ich metabolizmu, ze specjalnym uwzględnieniem tego rodzaju domieszek i zanieczyszczeń chemicznych, to z powyższych praktycznych jak i teoretycznych względów zadanie obiecujące szereg ważnych wyników.

Wszystkie te uwagi, odnoszące się do potrzeby dalszych planowych i systematycznych badań procesów samooczyszczania, tyczą się *mutatis mutandis* także wszelkich sposobów biologicznego oczyszczania ścieków. Metody te bowiem — i to zarówno oparte na beztlenowych, jak i tlenowych procesach — są właściwie skoncentrowaniem procesu samooczyszczania się na znacznie mniejszej przestrzeni i w daleko krótszym czasie, niż to ma miejsce w przyrodzie. I tutaj też dalsze systematyczne rozpoznanie czynnych populacji musi mieć dla praktyki takich biologicznych elementów oczyszczalni duże znaczenie.

Poza tym działanie takich biologicznych elementów można bardzo dobrze porównać z fermentacyjnym przerobem w przemyśle i spróbować zastosowania także i w tym przypadku zasady czystej kultury albo odpowiednio dobranej i zestawionej celowo mieszaniny czystych kultur. Wspomniane powyżej badania mikrobiologicznych populacji, czynnych bądź w procesie samooczyszczania się, bądź też na biologicznych elementach oczyszczalni,

gdzie dobór ich odbył się w drodze naturalnej, mogą doprowadzić najpierw do poznania najbardziej czynnych i najwięcej istotnych dla danego procesu szczepów. Bliższe ich poznanie na tej podstawie jak i na podstawie danych literatury mogłoby wskazać nam drogę do zastosowania dla biologicznych metod oczyszczania ścieków najbardziej odpowiednich gatunków czy odmian lub ich mieszanin — podobnie jak to czynimy we wszystkich działach przemysłu fermentacyjnego. W ten sposób wcale nie jest wykluczona możliwość dalszego usprawniania używanych w technologii ścieków metod biologicznego oczyszczania na podstawie odpowiednio rozwiniętych i prowadzonych mikrobiologicznych badań.

Trzeba tu bowiem zaznaczyć, że ogólnie dzisiaj używany sposób uruchamiania i prowadzenia biologicznych oczyszczalni można — posługując się terminologią używaną w technologii fermentacyjnej — nazwać metodą opartą na „dzikiej fermentacji". Zauważyć należy także i to, że określenie powyższe jest na miejscu także i w tych przypadkach, gdzie — jak np. w metodzie czynnego osadu — przez zawracanie części końcowego szlamu następuje zasiewanie jego mikroflory do świeżo napływających ścieków. Ostatecznie bowiem pochodzenie tego zasiewu ma też swe źródło w tym, co nazywamy właśnie „dziką fermentacją". Zastosowanie zaś czystej kultury lub — jak powiedziałem — mieszaniny celowo dobranych czystych kultur już na samym początku przy puszczaniu w ruch danego biologicznego elementu oczyszczalni dawałoby nadzieję dokładnego skierunkowania całego przyszłego biologicznego procesu i usprawnienia go zarówno co do czasu, jak i skali działania i jego dokładności.

Szczególne znaczenie miałoby to w tych przypadkach, gdzie będzie chodzić o usunięcie ze ścieków w drodze biologicznych procesów specjalnych zanieczyszczeń chemicznych, o których poprzednio tu była mowa (kwasy lignino-sulfonowe, fenol i wiele innych); dla fenolowych ścieków stosowano już taką metodę po wyosobnieniu kultur bakteryjnych, usuwających ten składnik ze ścieków działaniem swych przemian metabolicznych. Sprawa ta jednak ma swój daleko szerszy zasięg i potrzebę badania z racji scharakteryzowanej poprzednio różnorodności tego typu zanieczyszczeń, pochodzących z rozmaitych gałęzi chemicznego przemysłu. Chodzi przecież nie tylko o kwasy lignino-sulfonowe czy fenol wraz z jego homologami i analogami, ale także np. o trójnitrotoluol, również podlegający w rzece działaniu biologicznemu, o zasady pirydynowe, anilinowe i bardzo wiele innych substancji.

Zwróćmy się teraz jeszcze do tego najnowszego działu biologicznego oczyszczania ścieków przemysłowych, organicznie zanieczyszczonych, który — jak np. metoda dra Jonassa — polega na hodowaniu poszczególnych grzybni na tego rodzaju ściekach, wyzyskaniu zebranej stąd grzybni, np. jako paszy, i uwolnieniu na tej drodze samych ścieków od nadmiaru ich zanieczyszczających składników. Zasada zresztą tej metody jest identyczna ze stosowaną przy produkcji drożdży (pastewnych) na rozmaitych odpływach przemysłowych, zawierających przyswajalne formy węglowodanów, ciał azotowych i innych. W obu też przypadkach naczelnym mikrobiologicznym zagadnieniem jest wyosobnienie, poznanie i zastosowanie w tej czy innej metodzie takich czystych kultur, takich organizmów, które będą sprowadzały pożądany przez nas technologiczny efekt w najbardziej dla przemysłu pożądanych warunkach, w sposób materialnie i energetycznie najbardziej

wskazany i opłacalny. Metoda tu wspomniana jest tym bardziej ważna, że grzybnie takie mogą być nie tylko cenne jako pasza, ale mogą także stanowić techniczne źródło np. witamin, enzymów czy innych jeszcze biokatalitycznie czynnych składników.

Na samym końcu, bynajmniej nie na ostatnim miejscu ważności, przychodzi wspomnieć jeszcze o dalszych mikrobiologicznych zagadnieniach, a mianowicie o wirusach i bakteriofagach oraz o enzymach. Niewątpliwie znajdują się one w wielu ściekach, szczególnie miejskich oraz innych organicznie zanieczyszczonych, i odgrywają tam mało dotychczas zbadaną rolę. Poznanie ich i określenie bądź nawet wyzyskanie tej ich roli tak w procesie samooczyszczania się odbiorników, jak i w procesach odbywających się w biologicznych elementach oczyszczalni, to wreszcie dalszy człon naszych potrzeb w dziedzinie zagadnień mikrobiologicznych tych spraw, o których tutaj była mowa.

Kończąc te moje uwagi pragnę jeszcze wyraźnie podkreślić, że przedstawionych tu kierunków potrzebnych – według mnie – badań bynajmniej nie można uważać za prace pionierskie. Przeciwnie, wiele z nich ma już bardzo rozległą i obfitą literaturę z wyjątkiem raczej naszych czysto krajowych stosunków mikroflory wód. Celem naszym byłoby więc rozszerzenie i pogłębienie tych badań w stosunku do stanu rzeczy i do koniecznych, pilnych potrzeb naszego kraju, a mianowicie na podstawie z góry powziętego ich usystematyzowania i zaplanowania*.

* Wnioski przedstawione przez prof. dra A. Joszta zostały włączone do „Wniosków i uchwał" Sekcji B XII Zjazdu Mikrobiologów Polskich (*Acta Microbiol. Polonica*, 1953,2-3.

SPIS TREŚCI

str.

I. Madecka-Borkowska: Wpływ kobaltu na przemianę węglowodanową i wytwarzanie acetoiny w płynnych hodowlach bakteryjnych 251
J. Opieńska-Blauth, T. Borkowski i I. Madecka-Borkowska: Wykrycie związku o dodatniej reakcji Voges-Proskauera w płynnej hodowli *Escherichia coli* w obecności niektórych inhibitorów 263
Wł. Kunicki-Goldfinger, J. Kowalska i M. Sabbo: Dyfteroidy glebowe. I. Morfologia i własności wzrostowe 277
Wł. Kunicki-Goldfinger, Wł. Stachal i M. Urbańska: Dyfteroidy glebowe. II. Cytologia 287
R. Pakuła, M. Tyc i W. Walczak: Aktywność bakteriolityczna szczepu *Sarcina lutea* 293
J. Strzemska: Zagadnienie mikoryzy u zbóż. Cz. III. Pszenica . . . 297
N. Balicka: Wpływ szczepienia azotobakterem na plony roślin niemotylkowych 307
A. Kozłowska: Z biologii wirusów roślinnych 319
A. Josz t: Zagadnienia mikrobiologiczne w technologii wody i ścieków 332

СОДЕРЖАНИЕ

стр.

1. И. Мадецка-Борковска: Влияние кобальта на обмен углеводов и образование ацетоина в жидких культурах бактерий . 251
2. Я. Опеньска-Бляут, Т. Борковски и И. Мадецка-Борковска: Обнаружение соединения с положительной реакцией Фогес-Проскауэра в жидкой культуре *Escherichia coli* в присутствии некоторых ингибиторов 263
3. В. Куницки-Гольдфингер, Я. Ковальска и М. Саббо: Почвенные дифтероиды. I. Морфология и свойства роста . 277
4. В. Куницки-Гольдфингер, В. Стахаль и М. Урбаньска: Почвенные дифтероиды. II. Цитология 287
5. Р. Пакула, М. Тыц и В. Вальчак: Бактериолитическая активность штамма *Sarcina lutea* 293
6. Я. Стржемска: Образование микоризы у хлебных злаков. ч. III. Пшеница. 297
7. Н. Балицка: Влияние заражения азотобактером небобовых растений на их урожайность 307
8. А. Козловска: К биологии растительных вирусов 319
9. А. Иошт: Микробиологические вопросы в технологии воды и сточных вод 332

CONTENTS

page

I. Madecka-Borkowska: The influence of cobalt ions upon the glucose metabolism and acetoin formation in bacterial cultures . . 251

J. Opieńska-Blauth, T. Borkowski and I. Madecka-Borkowska: The substance giving positive Voges-Proskauer test in fluid cultures of *Escherichia coli* in the presence of some enzyme inhibitors 263

Wł. Kunicki-Goldfinger, J. Kowalska und M. Sabbo: Bodendiphteroiden I. Morphologie und Wachstumseigenschaften 277

Wł. Kunicki-Goldfinger, Wł. Stachal und M. Urbańska: Bodendiphteroiden II. Cytologie 287

R. Pakuła, M. Tyc and W. Walczak: The bacteriolytic activity of a strain of *Sarcina lutea* 293

J. Strzemska: The mycorrhiza of corn plants P. III. Wheat 297

N. Balicka: The influence of inoculation with *Azotobacter* on the yields of non-leguminous plants 307

A. Kozłowska: On the biology of plant viruses 319

A. Joszt: Microbiological problems in water, sewage and industrial wastes technology 332

SKOROWIDZ AUTORÓW

str.

Balicka N.: Wpływ stopnia wilgotności gleby w momencie jej uprawy na własności fizyczne i mikroflorę 155
Balicka N.: Wpływ szczepienia azotobakterem na plony roślin niemotylkowych 307
Bednarek Z.: Wstępne próby hodowli *Oidium* na hydrolizacie drewna sosnowego 204
Bednarek Z. — patrz Jakubowska J. i współpracownicy. . 177
Borkowski T. — patrz Opieńska-Blauth J. 263
Bujak St.: Wykorzystanie odpadków przemysłowych do produkcji białka paszowego 208
Czapliński Fr.: Zarodnikujące drobnoustroje tlenowe w konserwach mięsnych 171
Czerwińska E., Sadurska I. i Kozłowska S.: Promieniowce niszczące papier zabytkowy 160
Czerwińska E. — patrz Kowalik R. 111
Degen-Brandes S.: Metoda szybkiego różnicowania kolonii „O" rodzaju *Proteus* i pałeczek *Enterobacteriaceae* 147
Dymowska Z. i Feltynowski A.: Leptospiry w mikroskopie elektronowym 125
Feltynowski A.: — patrz Dymowska Z. 125
Galińska L. i Goździk F.: Wpływ kwasu octowego na fermentację alkoholową 232
Goździk F.: — patrz Galińska L. . . . . .
Horoszewicz J.: Z badań nad postaciami L drobnoustrojów . . 121
Horst H. i Kotelba R.: Laboratoryjny sposób utrwalania i przechowywania szczepów bakteryjnych 142
Jakubowska J., Mokrzycki J., Niemyski K. i Bednarek Z.: Otrzymywanie drożdży pastewnych na hydrolizatach z hydrolizy wstępnej drewna sosnowego metodą siarczanową 177
Jankun A.: Badania nad drożdżami występującymi na owocach krajowych 66
Jastrzębski T., Kochański J. i Uszyński St.: Regeneracja agaru 145
Jeszt A.: Zagadnienia mikrobiologiczne w technologii wody i ścieków 332
Jurkowska H.: — patrz Lityński T. 40
Kanicka Z., Kendrzeńska K., Mass S., Piotrowska E., Tomczyk H. i Wolnicka Z.: Badania wód studziennych na terenie m. Łodzi 155
Kendrzeńska K.: — patrz Kanicka Z. . . . . .
Kin Z.: Fermentacja etanolowa ługów posiarczynowych 232
Kochański J.: — patrz Jastrzębski T. . . . . .
Kocwa E.: Działanie penicyliny i aureomycyny na *Saccharomyces cerevisiae, Thermobacterium cereale* i *Acetobacter rancens.* 219
Kocwa E.: D.D.T. jako czynnik stymulujący fermentację i wzrost drożdży 222
Kotelba R.: — patrz Horst M. . . . . .
Kowalik R. i Czerwińska E.: Grzybobójcze działanie czterochloro-p-benzochinonu i 2,3-dwuchloro 1,4-naftochinonu 111
Kowalska J.: — patrz Kunicki-Goldfinger Wł. .
Kovats J. i Lewicka M.: Badania nad oczyszczaniem me-

lasów dla celów fermentacji kwasu cytrynowego 139
Kozłowska A.: Z biologii wirusów roślinnych 319
Kozłowska S.: — patrz Czerwińska S. . . . . .
Krzysztofik W.: — patrz Zagrodzki S. . . . . .
Kunicki-Goldfinger Wł., Kowalska J. i Sabbo M.: Dyfteroidy glebowe I. Morfologia i własności wzrostowe 273
Kunicki-Goldfinger Wł., Stachal Wł. i Urbańska M.: Dyfteroidy glebowe II. Cytologia 287
Kuryło Z. i Pitekówna I.: Wpływ różnych warunków suszenia na żywotność niektórych szczepów bakteryjnych 139
Kuźniar K.: O jednostkach porównawczych w mikrobiologii gleby 154
Kwapiński J. i Pietraszkiewicz H.: Zmienność barwikotwórcza *Pseudomonas aeruginosa* i *Serratia marcescens* pod wpływem alkaloidów fenantrenowych 149
Lewicka L.: — patrz Kovats J. . . . . .
Lityński T. i Jurkowska H.: Glaukonit jako źródło potasu dla kropidlaka czarnego (*Aspergillus niger*) 40
Luchterowa A.: Geomikrobiologia w przemyśle naftowym . . . 151
Madecka-Borkowska I.: Wpływ kobaltu na przemianę węglowodanową i wytwarzanie acetoiny w płynnych hodowlach bakteryjnych 251
Madecka-Borkowska I.: patrz Opieńska-Blauth J. 263
Maliszewska W.: Wpływ szczepienia azotobakterem na plony roślin niemotylkowych 54
Mass S.: — patrz Kanicka Z. . . . . .
Matusiak K.: Badania nad wykorzystaniem potasu przez *Aspergillus niger* z tufu filipowickiego 150
Michalska I.: Praktyczne znaczenie badań nad termoodpornością szczepów bakteryjnych dla kontroli bakteriologicznej w przemyśle konserwowym 174
Morzycka M. i Wysoczyńska H.: Porównanie metody fermentacyjnej i filtracyjnej określania miana *coli* w wodzie z zastosowaniem błon filtracyjnych własnej produkcji 159
Mokrzycki J.: — patrz Jakubowska J. . . . . .
Niemyski K.: — patrz Jakubowska J. . . . . .
Nowotny F. i Rzędowski W.: Badania nad otrzymywaniem enzymatycznych preparatów do klarowania soków owocowych i win . . 229
Obojska K.: Rozkład węglowodorów nasyconych i nienasyconych przez mykobakterie saprofityczne 129
Ogielski L., Skurski A. i Sylwestrówna K.: Obraz mikroskopowy flory bakteryjnej procesu gnilnego mięsa, zachodzącego w warunkach tlenowych 165
Ogrodowczyk K.: — patrz Timmler A. . . . . .
Ońko Z.: — patrz Timmler A. . . . . .
Opieńska-Blauth J., Borkowski T. i Madecka-Borkowska I.: Wykrycie związku o dodatniej reakcji Voges-Proskauera w płynnej hodowli *Escherichia coli* w obecności niektórych inhibitorów 263
Orłowska K.: Badanie bakterii octowych występujących w octowniach polskich 233
Pakuła R., Tyc M. i Walczak W.: Aktywność bakteriolityczna szczepu *Sarcina lutea* 293
Pietraszkiewicz H.: — patrz Kwapiński J. . . . . .
Pikulska H.: Porównanie i ocena liczenia bakterii metodą płytkową i kropelkową 30
Piotrowska E.: — patrz Kanicka Z. . . . . .
Pitekówna I.: — patrz Kuryło Z. . . . . .
Prost E.: Badania nad zastosowaniem antybiotyków w produkcji konserw mięsnych 168
Rzędowski W.: — patrz Nowotny F. . . . . .

Rzędowska H.; Zagadnienie wtórnej fermentacji ziarna kakaowego w świetle badań własnych 234
Sabbo M.: — patrz Kunicki-Goldfinger Wł. 277
Sadurska I.: — patrz Czerwińska E. . . . . .
Sakławska-Szymonowa O.: Wpływ miedzi na wzrost i zużytkowanie glukozy w płynnych hodowlach *Escherichia coli* . . . 99
Skurski A.: — patrz Ogielski L. . . . . .
Smyk B.: Badania mikrobiologiczne i biochemiczne nad racjonalizacją kiszenia — silosowania pasz 237
Stachal Wł.: — patrz Kunicki-Goldfinger Wł. .
Strzemska J.: Zagadnienie mikroryzy u zbóż .Cz. III. Pszenica . . 297
Sylwestrówna K.: — patrz Ogielski L. . . . . .
Szember A.: Mikroflora kiszonek ziemniaczanych 247
Teisseyre T.: Wpływ sterylizacji na pH podłoża w zależności od jego składu 133
Timler A., Ogrodowczyk K. i Ońko Z.: Badania fizykochemiczne i mikrobiologiczne wód rzeki Łódki 157
Tomczyk H.: — patrz Kanicka Z. . . . . .
Tyc M.: — patrz Pakuła R. . . . . .
Urbańska M.: — patrz Kunicki-Goldfinger Wł. . . . . .
Urbańska-Nowakowska A.: Wpływ drożdży browarniczych i kiełków słodowych na fermentację mlekową melasu 226
Uszyński St.: — patrz Jastrzębski T.
Walczak W.: — patrz Pakuła R. . . .
Wisłocki St.: Liofilizacja 10
Wolnicka Z.: — patrz Kanicka Z. . . . . .
Wysoczyńska H.: — patrz Morzycka M. . . . . .
Zagrodzki S.: — patrz Zaorska H. . . . . .
Zagrodzki S. i Krzysztofik W.: Ciągła fermentacja cytrynowa przy użyciu anicnitu 209
Zaorska H. i Zagrodzki S.: Biologiczna synteza białka z odsolonego wywaru melasowego 197
Ziemięcka J.: Osiągnięcia i plany mikrobiologii rolniczej . . . 3

SKOROWIDZ RZECZOWY

str.

Agaru-regeneracja Jastrzębski T., Kochański J. i Uszyński St.) 145
Alkaloidy fenantrenowe, wpływ na zmienność barwikotwórczą u *P. aeruginosa i S. marcescens* (Kwapiński J. i Pietraszkiewicz H.). 149
Aspergillus niger, glaukonit jako źródło potasu (Lityński T. i Jurkowska H.) 40
Aspergillus niger, tuf filipowicki jako źródło potasu (Matusiak K.) 150
Azotobakter, wpływ szczepienia na rośliny niemotylkowe (Maliszewska W.) 54
Azotobakter, wpływ szczepienia na rośliny niemotylkowe (Balicka N.) . 307
Antybiotyki, zastosowanie w produkcji konserw mięsnych (Prost E) . . 168
Aureomycyna i penicylina, działanie na *S. cerevisiae*, *Th. cereale* i *A. rancens* (Kocwa E.) 219
Acetoina, wytwarzanie i przemiana węglowodanowa u bakterii pod wpływem kobaltu (Madecka-Borkowska I.) 251
Acetonia, związek o dodatniej reakcji Voges-Proskauera w hodowli *E. coli* (Opieńska-Blauth i współpracownicy) 263
Acetobacter rancens, *Th. cereale* i *S. cerevisiae*, działanie penicyliny i aureomycyny (Kocwa E.) 219
Alkoholowa fermentacja — patrz Fermentacja . . . . . .
Bakteryjnych szczepów żywotność, wpływ suszenia w różnych warunkach (Horst M. i Kotelba R.) 142

Bakteryjnych szczepów przechowywanie, sposób laboratoryjny (Kuryło Z. i Pitekówna J.) — patrz też pod **Liofilizacja** 139
Bakterii liczenie, porównanie metody płytkowej i kropelkowej (Pikulska H.) 30
Białko paszowe — patrz **drożdże** i *Oidium* . . . . . .
Bakteriolityczna aktywność *Sarcina lutea* (Pakuła R. i współpracownicy) 293
Cztero-chloro-benzochinon i 2, 3-dwuchloro-1, 4-naftochinon, grzybobójcze działanie (Kowalik R. i Czerwińska E.) 111
Cytologia dyfteroidów glebowych (Kunicki-Goldfinger i współpracownicy) 288
Cytrynowa fermentacja — patrz „**Fermentacja**“ . . . . . .
2,3-dwuchloro-1, 4-naftochinon i czterochloro-p-benzochinon, grzybobójcze działanie (Kowalik R. i Czerwińska E.) 111
Drożdże pastewne, produkcja na hydrolizatach drewna (Jakubowska J. i współpracownicy) 177
Drozdże pastewne, produkcja z odsolonego wywaru melasowego (Zaorska H. Zagrodzki S.) 197
Drożdże pastewne, wykorzystanie odpadków przemysłowych do produkcji (Bujak St.) 208
Drożdże, występujące na owocach krajowych (Jankun A.) 66
Drożdże (*S. cerevisiae*), wpływ peniciliny i aureomycyny (Kocwa E.) . 219
Drożdże, stymulacja wzrostu i fermentacji przez D.D.T. (Kocwa E.) . . 222
Drożdże browarnicze i kiełki słodowe, wpływ na fermentację mlekową melasu (Urbańska-Nowakowska A.) 226
Dyfteroidy glebowe, morfologia i wzrostowe własności (Kunicki-Goldfinger i współpracownicy) 277
Dyfteroidy glebowe, cytologia (Kunicki-Goldfinger i współpracownicy) 287
D.D.T., stymulacja fermentacji i wzrostu drożdży (Kocwa E.) 222
Escherichia coli, wpływ miedzi na zużytkowanie glukozy i wzrost (Sakławska-Szymonowa O.) . . . . . .
Escherichia coli, powstawanie związku o dodatniej reakcji Voges-Proskauera w obecności inhibitorów enzymatycznych (Opieńska-Blauth i współpracownicy) 263
Enterobacteriaceae i *Proteus*, kolonie O, szybka metoda różnicowania (Degen-Brandes S.) 147
Elektronowy mikroskop — obraz leptospir (Dymowska Z. i Felitynowski A.) 125
Enzymatyczny preparat do klarowania soków i win, otrzymywanie (Nowotny F. i Rzędowski W.) 229
Fermentacja, cytrynowa ciągła melasu przy użyciu anionitu (Zagrodzki S i Krzysztofik W.) 209
Fermentacja cytrynowa, oczyszczanie melasu (Kovats J. i Lewicka M.) 224
Fermentacja, wzrost drożdży, stymulacja przez D.D.T. (Kocwa E.) . . 222
Fermentacja ługów posiarczynowych (Kin Z.) 232
Fermentacja alkoholowa, wpływ kwasu octowego (Galińska L. i Goździk F.) 232
Fermentacja mlekowa melasu, działanie drożdży i kiełków słodowych (Urbańska-Nowakowska A.) 226
Fermentacja wtórna ziarna kakaowego (Rzędowska H.) 234
Glukoza, zużytkowanie w płynnych hodowlach *E. coli* pod wpływem miedzi (Sakławska-Szymonowa O.) 99
Grzybobójcze działanie czterochloro-p-benzochinonu i 2, 3-dwuchloro- 1, 4-naftochinonu (Kowalik R. i Czerwiński E.) 111
Glaukonit jako źródło potasu dla *Asp. niger* (Lityński T. i Jurkowska H.) 40
Geomikrobiologia w przemyśle naftowym (Luchterowa A.) 151
Gleba, własności fizyczne i mikroflora, wpływ stopnia wilgotności w momencie uprawy (Balicka N.) 155
Gnilny proces tlenowy mięsa, obraz flory bakteryjnej (Ogielski L. i współpracownicy) 165

Hydrolizaty drewna, wykorzystanie dla hodowli drożdży (Jakubowska J. i współpracownicy) 177
Hydrolizaty drewna, próby hodowli *Oidium* (Bednarek Z.) 204
Jednostki porównawcze w mikrobiologii gleby (Kuźniar K.) 154
Konserwy mięsne, zastosowanie antybiotyków do produkcji (Prost E.) . . 168
Konserwy mięsne, zarodnikujące drobnoustroje tlenowe (Czapliński Fr.) 171
Konserwy mięsne, praktyczne znaczenie badań nad termoodpornością szczepów bakteryjnych (Michalska I.) 174
Kobalt, wpływ na przemianę węglowodanową i wytwarzanie acetoiny u bakterii (Madecka-Borkowska I.) 251
Kakaowe ziarno, wtórna fermentacja (Rzędowska H.) 234
Kropidlak — patrz *Aspergillus* . . . . . .
Klarowanie soków i win, otrzymywanie preparatu enzymatycznego (Nowotny F. i Rzędowski W.) 229
Kiszenie pasz, badania mikrobiologiczne i biochemiczne (Smyk B.) . . 237
Kiszonki ziemniaczane, mikroflora (Szember A.) 247
L — **postacie** drobnoustrojów (Horoszewicz A.) 121
Leptospiry w mikroskopie elektronowym (Dymowska Z. i Feltynowski A.) 125
Liczenie bakterii... patrz pod **Bakterie** . . . . . .
Liofilizacja (Wisłocki St.) 10
Liofilizacja patrz też „Bakteriologicznych szczepów przechowywanie" . .
Ługi posiarczynowe, fermentacja etanolowa (Kin Z.) 232
Miedź, wpływ na wzrost i zużytkowanie glukozy w płynnych hodowlach *E. coli* (Sakławska-Szymonowa O.) 99
Mykobakterie saprofityczne, rozkład węglowodorów (Obojska K.) . . 129
Mikrobiologia rolnicza, osiągnięcia i plany (Ziemięcka J.) 9
Mikrobiologia gleby, jednostki porównawcze (Kuźniar K.) 154
Mikrobiologiczne zagadnienia w technologii wody i ścieków (Joszt A.) . 332
Mikroflora gleby i własności fiz. chem., wpływ stopnia wilgotności w momencie uprawy (Balicka N.) 155
Mięso, obraz mikroskopowy flory bakteryjnej procesu gnilnego w warunkach tlenowych (Ogielski L. i współpracownicy) 105
Mięso — konserwy, zastosowanie antybiotyków w produkcji (Prost E.) 168
Mięso — konserwy, zarodnikujące drobnoustroje tlenowe (Czapliński Fr.) 175
Mięso — konserwy, praktyczne znaczenie badań nad termoodpornością szczepów bakteryjnych (Michalska I.) 174
Melas, wywar odsolony, biologiczna synteza białka (Zaorska H. i Zagrodzki S.) 197
Melas, ciągła fermentacja cytrynowa przy użyciu anionitu (Zagrodzki S. i Krzysztofik W.) 209
Melas, oczyszczanie dla celów fermentacji cytrynowej (Kovats J. i Lewicka M.) 221
Melas, fermentacja mlekowa, działanie drożdży i kiełków słodowych (Urbańska-Nowakowska A.) 226
Metabolizm węglowodanowy bakterii i tworzenie acetoiny, wpływ kobaltu (Madecka-Borkowska I.) 251
Metabolizm węglowodanowy, *E. coli* wytwarzanie związku o dodatniej reakcji V. P. w obecności inhibitorów enzymatycznych (Opieńska-Blauth J. i współpracownicy) 99
Metabolizm węglowodanowy, *E. coli*, wpływ miedzi (Sakławska-Szymonowa O.) 263
Morfologia, dyfteroidów glebowych (Kunicki-Goldfinger Wł. i współpracownicy) 277
Maczugowce — patrz **Dyfteroidy**
Mikoryza u zbóż, pszenica (Strzemska J.) 297
Mikroflora kiszonek ziemniaczanych (Szember A.) 247
Naftowy przemysł — rola mikrobiologii (Luchterowa A.) 151
Oidium, próby hodowli na hydrolizacie drewna (Bednarek Z.) 204
Owoce krajowe, występowanie drożdży (Jankun A.) 66

Octowy kwas, wpływ na fermentację alkoholową (Galińska L. i Goździk F.) 232
Octowe bakterie występujące w octowniach polskich (Orłowska K.) . 233
Octowe bakterie — patrz też *Acetobacter* . . . . . .
Papier zabytkowy, niszczenie przez promieniowce (Czerwińska E. i współpracownicy) 160
Promieniowce niszczące papier zabytkowy (Czerwińska E. i współpracownicy) 160
pH podłoża, wpływ sterylizacji w zależności od składu Teisseyre T.) 133
Przechowywanie szczepów bakteryjnych, sposób laboratoryjny (Horst M. i Kotelba R.) 142
Przechowywanie szczepów — patrz też **Liofilizacja** . . . . . .
Proteus, kolonie O i inne *Enterobacteriaceae*, szybka metoda różnicowania (Degen-Brandes S.) 147
Pseudomonas aeruginosa i *S. marcescens*, zmienność barwnikotwórcza pod wpływem alkaloidów fenantrenowych (Kwapiński J. i Pietraszkiewicz H.) 149
Potas, z glaukonitu, wykorzystanie przez *A. niger* (Lityński T. i Jurkowska H.) 40
Potas z tufu filipowickiego, wykorzystanie przez *A. niger* (Matusiak K.) 150
Pszenica, mikoryza (Strzemska J.) 297
Penicylina i aureomycyna, działanie na *S. cerevisiae*, *Th. cereale* i *Ac. rancens* (Kocwa E.) 219
Roślinne wirusy — patrz **Wirusy**
Sterylizacja, wpływ na pH podłoża w zależności od jego składu (Teisseyre T.) 133
Suszenie w różnych warunkach, wpływ na żywotność bakterii (Kuryło Z. i Pitekówna J.) 139
Serratia marcescens i *P. aeruginosa*, zmienność barwikotwórcza pod wpływem alkaloidów fenatrenowych (Kwapiński J. i Pietraszkiewicz H.) 149
Szczepienie azotobakterem, wpływ na rośliny niemotylkowe (Maliszewska M.) 54
Szczepienie azotobakterem, wpływ na rośliny niemotylkowe (Balicka N.) 307
Sarcina lutea, aktywność bakteriolityczna (Pakuła R. i współpracownicy) 293
Ścieków i wody technologia, zagadnienia mikrobiologiczne (Joszt A.) . 332
Saccharomyces cerevisiae — patrz **Drożdże** . . . . . .
Voges-Proskauera dodatni odczyn dająca substancja w hodowli *E. coli* (Opieńska-Blauth J. i współpracownicy) 263
Wina i soki, klarowanie, otrzymywanie preparatu enzymatycznego (Nowotny F. i Rzędowski W.) 229
Węglowodory nasycone i nienasycone, rozkład przez mykobakterie saprofityczne (Obojska K.) 129
Wody studzienne, badania na terenie Łodzi (Kanicka Z. i współpracownicy) 155
Wody, rzeki Łódki, badania mikrobiologiczne i fiz. chem. (Timmler A. i współpracownicy) 157
Wody i ścieków technologia, zagadnienia mikrobiologiczne (Joszt A.) 332
Wirusy roślinne — biologia (Kozłowska A.) 319
Zmienność barwnikotwórcza *P. aeruginosa* i *S. marcescens* pod wpływem alkaloidów fenantrenowych (Kwapiński J. i Pietraszkiewicz H.) 149
Zboża, mikoryza u pszenicy (Strzemska J.) 297
Żywotność bakterii, wpływ różnych warunków suszenia (Kuryło Z. i Pitekówna I.) 139

PRENUMERATA NA ROK 1954

czasopism naukowych

POLSKIEJ AKADEMII NAUK I TOWARZYSTW NAUKOWYCH

wydawanych przez

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

Tytuł	Ilość nr w roku	Prenumerata roczna zł
Acta Geologica Polonica	4	80,—
Acta Geophysica Polonica	4	48,—
Acta Microbiologica Polonica	4	40,—
Acta Physica Polonica	4	48,—
Archiwum Budowy Maszyn	4	60,—
Archiwum Hydrotechniki	4	60,—
Archiwum Górnictwa i Hutnictwa	4	60,—
Archiwum Elektrotechniki	4	60,—
Archiwum Mechaniki Stosowanej	4	60,—
Biuletyn PAN Wydz. II (jęz. ros.)	4	20,—
Biuletyn PAN Wydz. III (jęz. ros.)	10	50,—
Biuletyn PAN Wydz. IV (jęz. ros.)	4	20,—
Biuletyn PAN Wydz. II (jęz. zach.)	4	20,—
Biuletyn PAN Wydz. III (jęz. zach.)	10	50,—
Biuletyn PAN Wydz. IV (jęz. zach.)	4	20,—
Chrońmy Przyrodę Ojczystą	6	18,—
Ekonomista	4	60,—
Folia Biologica	4	48,—
Geodezja i Kartografia	4	26,—
Kwartalnik Historyczny	4	60,—
Kwartalnik Historii Kultury Materialnej	4	60,—
Kwartalnik IPR+Sovietica	4	40,—
Kwartalnik Neofilologiczny	4	60,—
Myśl Filozoficzna	4	60,—
Nauka Polska	4	80,—
Postępy Fizyki	4	40,—
Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej	4	48,—
Postępy Wiedzy Medycznej	4	48,—
Przegląd Geograficzny	4	28,—
Przegląd Historyczny	4	48,—
Przegląd Statystyczny	4	48,—
Przegląd Orientalistyczny	4	48,—
Roczniki Chemii	4	80,—
Sprawozdania z czynności i prac PAN	4	20,—
Wszechświat	10	15,—

Organ Min. Szkol. Wyższego i Gł. Zarz. Zw. Zaw. Nauczycielstwa Polskiego „Życie Szkoły Wyższej" — 12 × w roku — 96 zł rocznie.

Prenumeratę na rok 1954 przyjmuje Centr. Ekspedycja PPK „Ruch, Warszawa, Srebrna 12 konto PKO 1-110-28504. Nakłady ograniczone. Regularną dostawę czasopism zapewni tylko prenumerata.

Cena — zł 10.